日本海西部におけるシイラ漁況の研究—III. シイラの食餌内容について*

児 島 俊 平

(1961 年 3 月 17 日受理)

STUDIES ON FISHING CONDITIONS OF DOLPHIN, *CORYPHAENE HIPPURUS* L., IN THE WESTERN REGION OF THE SEA OF JAPAN—III. ON FOOD CONTENTS OF THE DOLPHIN

Shunpei KOJIMA**

The food contents of dolphins, 1,103 individuals in number, captured under the dipped-wood at the offing of Hamada, Shimane Prefecture, from July, 1955, to October, 1959, were examined (Figs. 1 & 2).

1) The contents of the alimentary canal have been classified into a great many different kinds, which are Pisces, Crustacea, Mollusca, Coelenterate and Algae, and the first is particularly dominant in frequency of appearance and in wet weight amounting nearly 90% of all, respectively (Table 1).

2) The alimentary canal contents are nearly limited to the creatures of surface layer, and it has been found that there is the limit on body length of those of median layer, *Sardinops melanosticta, Trachurus japonicus* and so on.

3) Body length of food fishes varies from 1 cm, or thereabouts, to 34 cm., but it may morphologically be divided into two discontinuous groups (2～4 cm & 10～15 cm).

4) The median sized food fishes (10～15 cm) are most prominent in frequency of appearance and in wet weight.

5) Larvae of Monacanthidae, *Upeneus bensai, Engraulis japonica* and *Oplegnathns fasciatus* have abundantly been found in young forms, which had directly been swallowed by dolphins.

シイラ *Caoyphaena hippurus* L. は表層性洄游魚とみなされており，ほとんどの漁法は，流木または漬木に蝟集しているシイラを対象として行なわれている。このような漁法によつて漁獲されたシイラについてその食餌内容を調査したので報告する。

材料と方法

1955 年 7 月から 1959 年 10 月にわたつて，浜田市内の魚屋および国立総合病院の調理場より投棄される内臓を蒐集して，ホルマリン固定をなし研究材料とした。このために魚体の形態などについては計測をなし得なかつたが，合計 1,103 個の内臓について調べた。こうした内臓をもつ魚体は，浜田沖***の距岸 10 浬から 70 浬におよぶ漁場 (Fig. 1) で，シイラ旋網****によつて漁獲されたものである。これらの体長組成

* 島根県水産試験場業績

** 島根県水産試験場 (Shimane Pref. Fish. Exper. Sta., Shimane, Japan).

*** シイラ旋網漁業は共同漁業権を必要とする免許制であるから，浜田港を根拠地とする従業船数および漁場は明確である。

**** シイラを対象とする漁法は本漁業の他に行なわれていない。

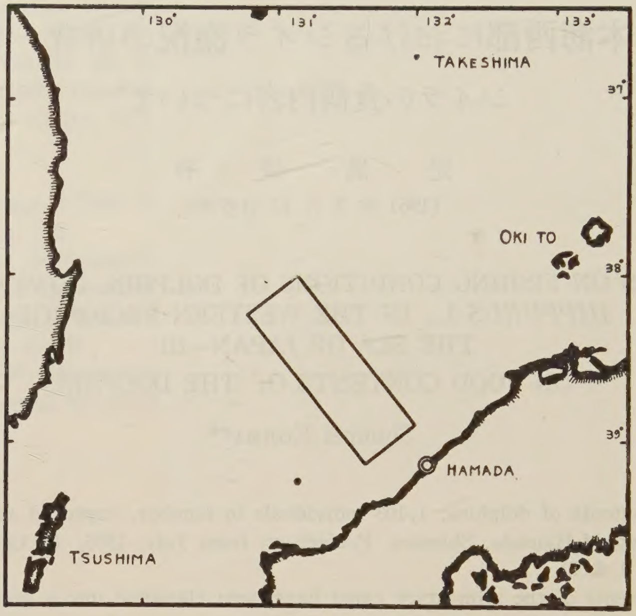


Fig. 1. Fishing ground, where examined fish were caught from.
|▭|····The sphere of the fishing ground.

はわからないが，その頃沖合でシイラ旋網によつて漁獲されるおうよその魚体範囲は尾叉長40cm以上のもので，それより小形のものはきわめて少ない (Fig. 2)。

胃内容物の同定に当つては，餌となる生物が一般に大形のものであるから肉眼によつて判定したが，消化の進んでいないものについては体長を測定した。肉質の分解が進んで種の同定が難しいものは，不明魚としてとり扱つた。餌重量は湿重量である。

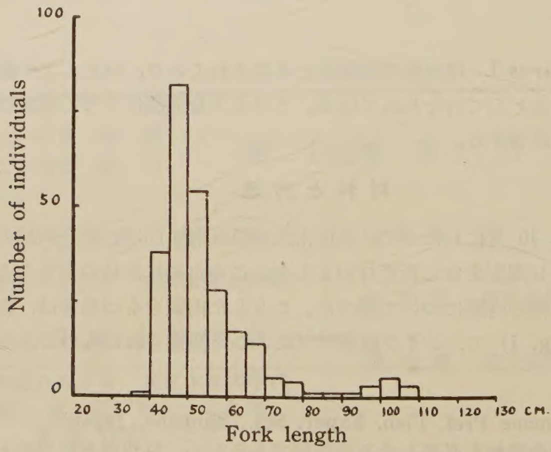


Fig. 2. Composition of fork length of dolphin, fished by purse seines (July～August, 1959).

調査の結果

1. 胃中に見られる散餌の出現状況

漬木に接近して魚群を旋網する際に，漬木からシイラを誘導する散餌としては，シイラ，イカ，イワシ類の肉片が使用されている。魚種，切断方法，鮮度などから推して単に航海中に遺棄されたものでなく，散餌*と推定されたものは 28 尾にみられた。中には散餌のみによつて消化管が充満 (200g) しているものもあつたが，散餌と推定されたものは食餌内容 (Table 1) から除外した。

2. 食餌内容の組成

胃内容物の同定の結果を Table 1 に示した。餌となる生物は動物性のもので，その種類は非常に多い。食餌内容の割合は魚類が出現回数 85%，重量 95% を占め，節足，軟体，腔腸動物が出現回数 10%，重量 4.8%，海藻類が出現回数 5%，重量 0.2% であつた。

漁期が6月から 10 月の夏季に限ぎられる関係から，胃内容物の出現状況は暖流性の魚類が多く，そしてカタクチイワシ，トビウオ，ヒメジ，マイワシ，カワハギ類の順位で出現している。月別状況は例年ほぼ同様の傾向を示し，7月から 10 月にわたつてカタクチイワシ，トビウオが他の種を圧して出現するが，8月から9月にはカワハギ，ヒメジ，海藻類の増加が目立ち，カツオノカンムリ，ギンクワクラゲはこの時期に出現している。種の年変動について 1956, '57 年の 7~8 月を比較すると，1956 年にはトビウオの出現がカタクチイワシよりも大きいが，1957 年には反対にトビウオが少ない。また 1956 年 9 月にはイカ類が多数出現している。

3. 餌とした生物およびその体長組成

餌である主な生物についておよそ出現重量の順にみると次のようである。それらの体長の測定結果を Fig. 3 に示した。

トビウオ類 Exocoetidae: 体長範囲は 2cm 前後の稚魚から 20cm の成魚におよぶが，10~15cm 程度の未成魚が最も多くみられた。季節的には 7~8 月は成魚が主体となるが，9月以降は 5~10cm の幼魚が多い。成魚は1尾ずつ，幼魚は 2~3 尾がほぼ同一の消化状態で胃中にみられた。

カタクチイワシ *Engraulis japonica*: 体長範囲はシラス期 (2cm 前後) から 15cm の成魚におよぶが，なかでも 7~8 月にかけて 11~12cm のものが最も多くみられた。5~10cm のものは全期にわたつてみられるが，やや後半に多い。シラス期のものは8月に顕著に現われ，他の月では僅少であつた。なおシイラ1尾当りの胃中にみられたカタクチイワシの個体数は稚幼魚の場合は数十尾に，また別の標体で成魚の場合は最高 12 尾 (215g) におよんでいる。これらの内容物の消化状態はそれぞれの場合でほぼ均一であつた。

マイワシ *Sardinops melanosticta*: 小羽から大羽イワシ (6~20cm) までのもので，10cm 前後の中羽イワシが最も多くみられた。出現時期は大羽イワシと共に7月から9月の間である。

ウルメイワシ *Etrumeus micropus*: 出現は僅か2例で，体長 18cm であつた。

カワハギ類 Monacanthidae: 体長 1~7cm までのもので小形のものほど多い。主として 8~9 月に出現し，季節的な体長の変化は認められない。

シイラ *Coryphaena hippurus*: 体長 30cm 未満の幼魚で，8月に 15~20cm 程度のものが多くみられた。この程度の魚体はシイラ旋網では，ほとんど漁獲されていない。

フグ類 Tetraodontidae: 体長 2~4cm と 6~8cm の群が 1956 年 8~9 月にみられた。

ダツ類 Belonidae: 体長 9~34cm のものまでみられたが，10~20cm のものが多い。

ヒメジ *Upenous bensasi*: カタクチイワシ，カワハギと共に稚魚類では最も多く出現した。体長範囲は 1~5cm で季節的には8月に多い。

イシダイ *Oplegnathus fasciatus*: 体長範囲は 2~7cm で，3~4cm のものが多い。出現時期は 8~9

---

* シイラ (16 例)····肉片 3~5cm² 10~20g. イカ類 (7例)····巾 2cm 位の輪切 5~15g. マイワシ (4例)···· 3つ切 5~15g. ウルメイワシ (1例)···· 3つ切 5~15g.

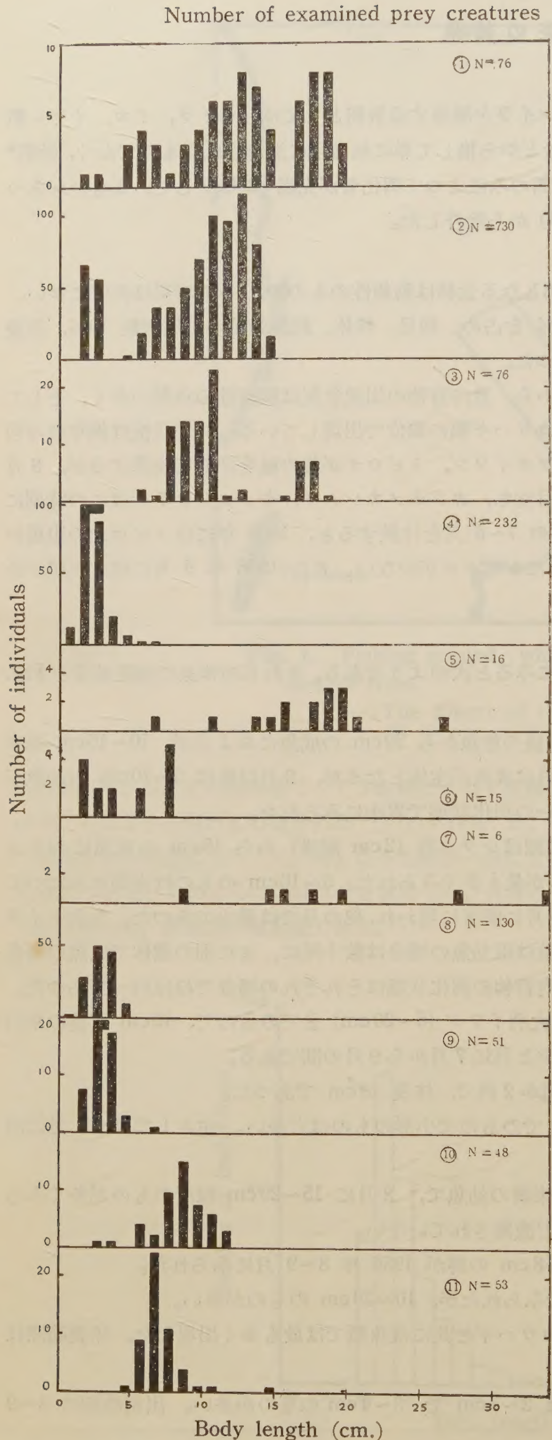


Fig. 3. Fork length compositions of prey creatures found in stomachs of dolphin.

月で，7月と 10 月にはみられなかつた。

マアジ *Trachurus japonicus*: 体長3～12cm のものが 7～9 月に多かつた。

ケンサキイカ *Loligo edulis*: 胴長範囲は5～15cm であつたが，特に 5～10cm のものが多く，最高 8 尾がほぼ同一状態で胃中にみられた。

その他の生物: ニジギンポ *Petroscirtes trossulus* は体長 2cm 前後。カニ類 *Portunidae* は Megalopa から甲幅 3cm までの幼体であつた。カツオノカンムリ *Velella lata*, ギンクワクラゲ *Povpita umbelle* は盤部の直径が 2～3cm と，1～2cm のものであつた。

考　　察

シイラの食餌内容は Table 1 のとおり魚類，節足，軟体，腔腸動物，海藻にわたつて出現種は非常に多いが，出現回数および摂餌量は魚類が 90% 近くを占めていた。主に餌となる魚類は暖海性のトビウオ，カタクチイワシ，マイワシ，サバなどの表層性魚類であり，シイラの幼魚も多数捕食されている。しかし成魚となつたマイワシ，ウルメイワシ，マアジなどの中層性魚類は僅少であり，それらの体長には限度がみられた。

底層性魚類のヒメジ，イシダイ，カワハギなどもみられたが，これらは春から秋にわたつて対馬暖流水域に出現する表層性稚魚の代表的な種類[1] で，浮游期から底棲性生活に移行する過度期のものであつた。これからみると，シイラの餌となる生物はごく海面近くを游泳するか，浮漂するものに限定されている。

---

①: Exocoetidae, ②: *Engraulis japonica*, ③: *Sardinops melanosticta*, ④: Monacanthidae, ⑤: *Coryphaena hippurus*, ⑥: Tetraodontidae, ⑦: Belonidae, ⑧: *Upeneus bensasi*, ⑨: *Oplegnathus fasciatus*, ⑩: *Doryteuthis kensaki*.

餌となる主な魚類の体長組成は Fig. 3 に示した。それによると捕食された体長範囲は 1cm 前後から 34cm の広い範囲にわたるが，各種とも最多頻度部分は体長 2~4cm と 10～15cm の2つの範囲にみられた。前者はカワハギ，ヒメジ，カタクチイワシなどの稚魚類で，後者はカタクチイワシ，トビウオ，マイワシなどの中形魚類により構成されている。そして，その最多頻度部分の魚体の出現回数ならびに重量は共に卓越している。これからみるとシイラが餌とする魚類には形態的にみて，非連続の2つの群のあることがわかる。これらの2つの群は直接シイラによつて捕食されたものか，それとも餌として大形魚に捕食されていたものがシイラの胃中にみられたのか問題となるが，しかし稚仔魚群出現の特徴は多くの場合，摂餌量が僅少で大形魚を捕食していない胃中に新鮮な状態でみられることであつた。これ等の事実から推察すると2つの非連続の群は直接シイラにより海から捕食されたものであると思われる。

要　　約

1)　1955 年 7 月から 1959 年 10 月にわたつて島根県浜田沖合で旋網により捕獲したシイラの食餌内容を 1,103 尾について調べた。

2)　消化管内容物は魚類，節足，軟体，腔腸動物，海藻類にわたり種は非常に多いが，魚類が出現回数，重量とも総体の 90% 近くを占めていた。

3)　消化管内容物はほぼ表層性の生物に限定されていた。

4)　餌とした魚類の体長範囲は 1cm 前後から 34cm にわたるが，形態的にみて非連続した2つの群 (2~4，10～15cm) に分けられる。

5)　餌として中型魚類 (10～15cm) が出現回数，重量とも最も多くみられた。

6)　稚魚類ではカワハギ，ヒメジ，カタクチイワシ，イシダイが多くみられた。これらはシイラにより直接捕食されたものである。

本文を終るに当り，御校閲を賜わつた日本海区水産研究所長内橋　潔博士，御高配をいただいた神藤正場長，餌料生物の種の同定に御助力を願つた鳥取県水産試験場千田哲資技師ならびに資料の蒐集に協力された科員中村恭一氏に謹んで深謝の意を表する。

文　　献

1)　内田恵太郎・道津喜衞：対馬暖流水域の表層に現われる魚卵・稚魚概説，対馬暖流開発調査報告，**2**，1~65 (1958).

河川(主として木曾川および揖斐川)の異常流出が伊勢湾のカタクチイワシ漁況におよぼす影響について

野々田得郎

(1961 年 4 月 7 日受理)

ON THE INFLUENCES OF THE EXCESSIVE FLOWS OF RIVERS (MAINLY THE KISO AND THE IBI) UPON THE CATCHES OF ANCHOVY IN ISE BAY

Tokuro NONODA*

The influences of the excessive flows of the river upon the catches of anchovy in Ise Bay were studied in analizing the data of discharge of the Rivers Kiso and Ibi, which have great influences on the variation of the sea condition of this bay, of the oceanographic observations, and of the daily fishery records of ten-odd boats sampled from each fishing port on Ise Bay. The results obtained are summarized as follows:

1) Within three days after the excessive flow breaks out influence of the fresh water extends to the south part of Ise Bay along its west side at the surface. At the depth of 5 m the influence seems to take place in about seventh day and to continue to about fifteenth day after the beginning of flow.

2) In one or two days after the excessive flow breaks out, the northern limit of fishing ground and the position of its centre move southwards. With abating of the flow they go the former state. Their locomotion in the direction of east and west is not so evident as one in the north and south.

3) Generally the catches of anchovy show a tendency to decrease after the excessive flow, and in most cases the minimum catch appears in the period from first to fifth day after beginning of the flow in the northern parts of Ise Bay and from sixth to fifteenth day in the middle and southern parts.

本報告では伊勢湾のカタクチイワシ漁において，特に河川の異常流出がおこつた場合の漁場の移動，漁獲量の変動等について検討した。

漁獲資料　用いた漁獲資料は伊勢湾各地のバッチ網漁船から蒐集したものでその詳細は次の通りである。 1) 1957, 1958 両年に伊勢湾各地 (Fig. 3 参照) から任意に選んだ 10 数統の漁船の日々の投網回数，投網場所，毎回漁獲量。 2) 1952～1958 年の 7 年間にわたる富洲原，白子，二見根拠の漁船（それぞれ 5 統，4 統，2～3 統）の日々漁獲量。

河川流量資料　伊勢湾え流出する多くの河川の中で長年にわたつて水位の観測資料の整つているのは木曽川，揖斐川，長良川の 3 河川だけであり(これら 3 河川の水位の変化のようすはほとんど同じである)。更にこの中で平水時，洪水時共に水位流量曲線の求められているのは揖斐川だけで，木曽川は平水時のみ求められている。そこで木曽川の洪水時の流量は，揖斐川の流量曲線を参考にして，平水時の流量曲線の引のばしを行ないおおよその見当をつけることにする。このようなわけで流量の変化のようすが一応明らかなのは木曽川および揖斐川だけであるので，本報告ではこれら 2 河川のみの資料から異常流出の生起回数，期日等を求めた。なおここで問題になるのは上記 3 河川以外の河川であるが，それらはそのほとんどが三重県に所

*三重県立大学水産学部 (Fac. Fish. Pref. Univ. Mie, Japan).

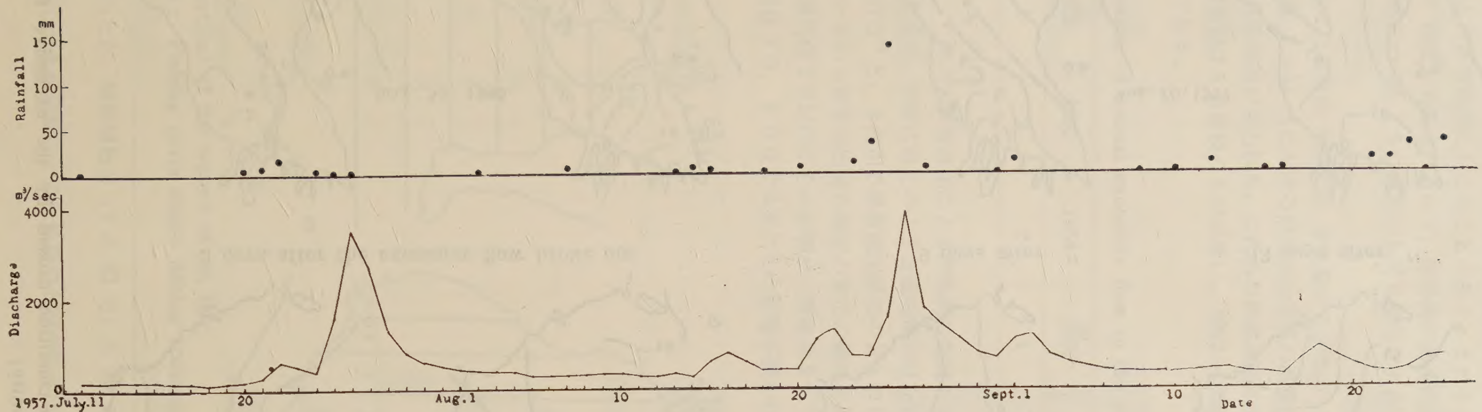


Fig. 1. Daily variations of rainfall at Tsu and the discharge amount in the Rivers Kiso and Ibi.

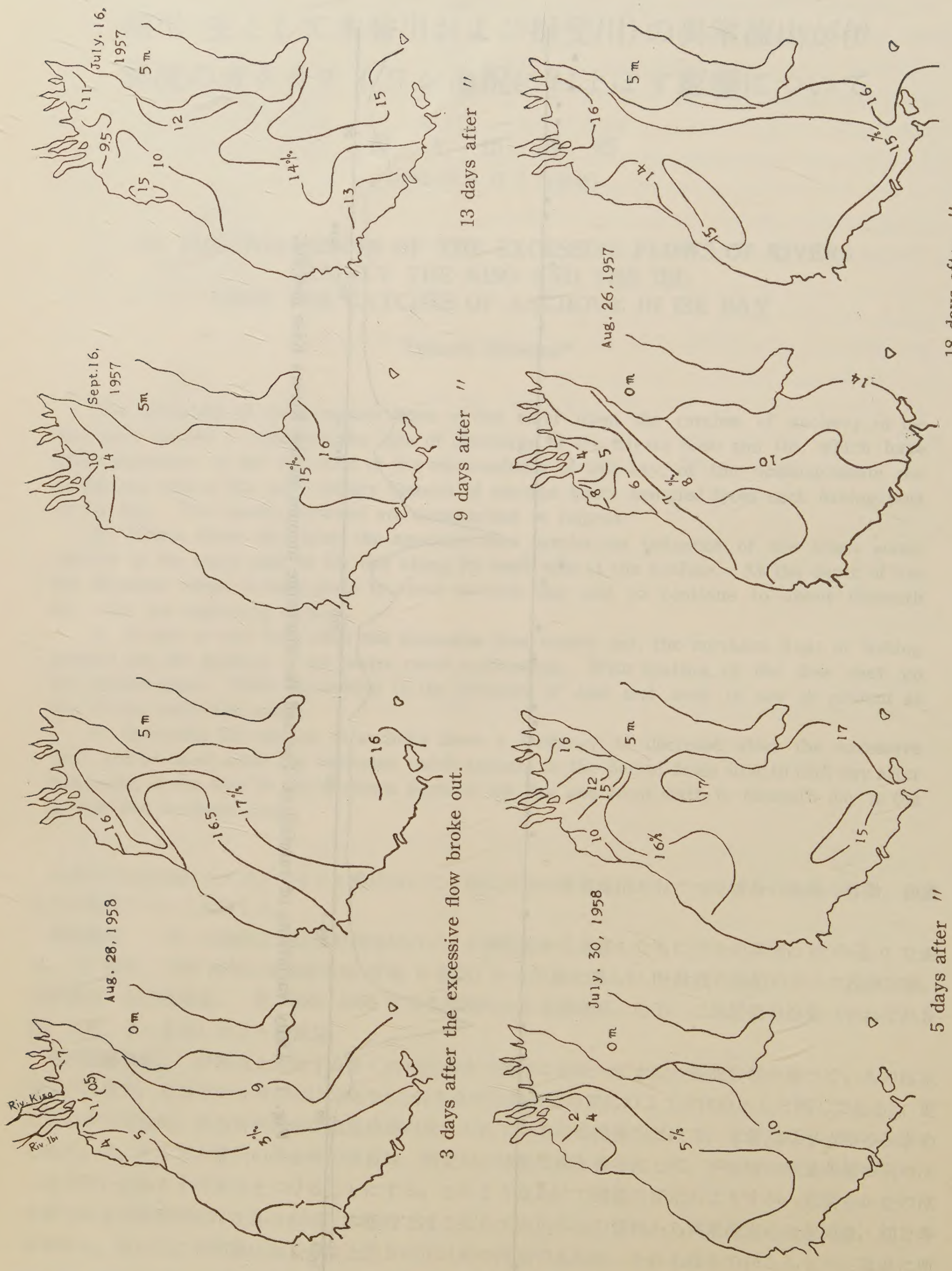


Fig. 2. The changes of the sea condition caused by the excessive flow of the river (indicated by the distribution of chlorinity)

在するので，三重県側の降水量の資料からその流量の変化の様相をうかがうことができる。それによるとその異常流出は河川の異常流出とほぼ同時期におこることが多く，またその場合の流量は，流域面積の比[1]から考えて3河川の流量の 1/3 程度と判断されるので，伊勢湾の海況に大きな変化を与えるような異常流出は，木曽川，揖斐川2河川（前にのべたように長良川も同じ変化をする）のそれで代表させても大きな誤りはないものと考えられる。

Fig. 1 に2河川の合計流量と三重県側（津地方）降水量の日変化の一例を示す。

カタクチイワシの漁期である 7～11 月における両河川の平常の流量は 300～500 m^3/sec 程度であるが，例年この期間に 1～2 回の異常流出が見られる。これらの異常流出が完全に平常流量までもどるのにはかなりの日数がかかるが，その盛期は5日前後のものが多い。1952～1958 年における年別の異常流出発生回数* は Table 1 に示す通りである。

Table 1. The frequency of annual excessive flow in the period from 1952 to 1958.

Year	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958
Number of excessive flow	1	2	2	1	2	2	2

異常流出による海況の変化　河川の異常流出による伊勢湾の海況の変化の様相は，流出後の連続的な海洋観測によつて知ることができるが，実際にはこのような観測資料はない。そこで便法として三重水試が毎月1回行なつた海洋観測の施行日[2]と，2河川の異常流出開始の日との日数のずれのいろいろな組合わせを取出して，その場合の塩素量分布から異常流出後の海況の変化の概略を見ることにする。(Fig. 2).

この図から，表層では異常流出後3日以内にその影響が三重県側をへてかなり南部にまでおよぶことがわかる。5 m 層** では異常流出後3日，5日目では未だその影響が現われていないが，9日目にはかなり現

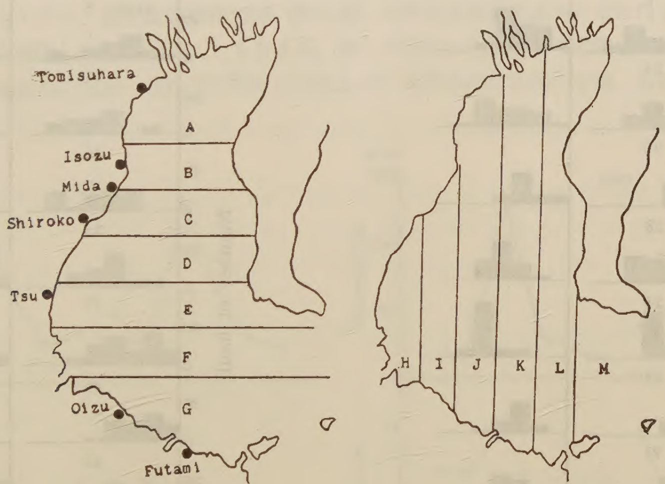
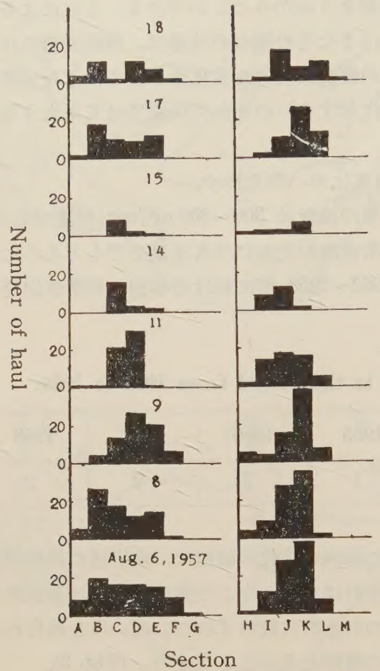


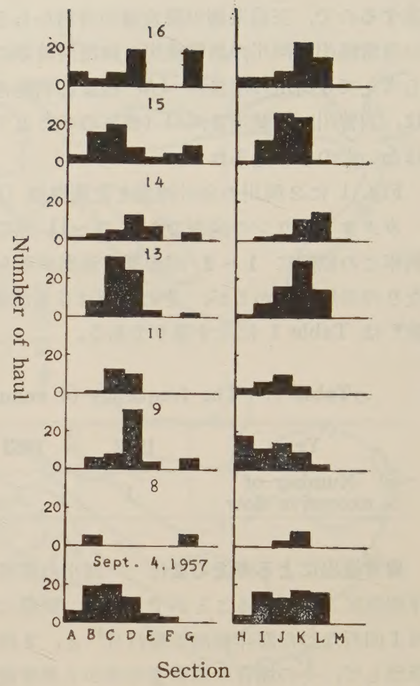
Fig. 3. Sections of the waters of Ise Bay.
● : Fishing ports where fishing boats were sampled.

* 1957 年にはもう1回あつたが，操業開始日（7月 23 日）の 20 日以前に起つたものなので Table 1 からは除外した。

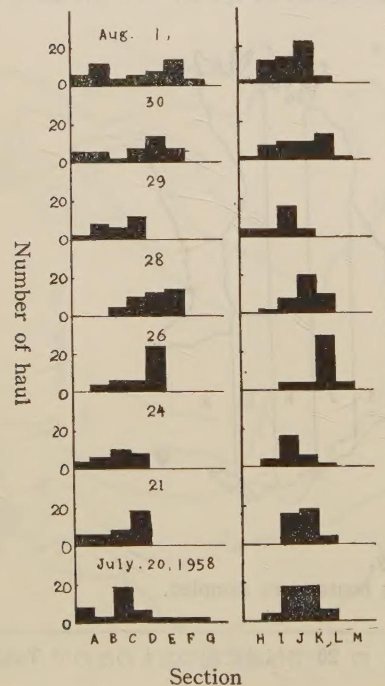
** 白子根拠の漁船から蒐集した魚探記録によると魚群の上端の深さは 4～7 m のものが多いので 5 m をとつた。



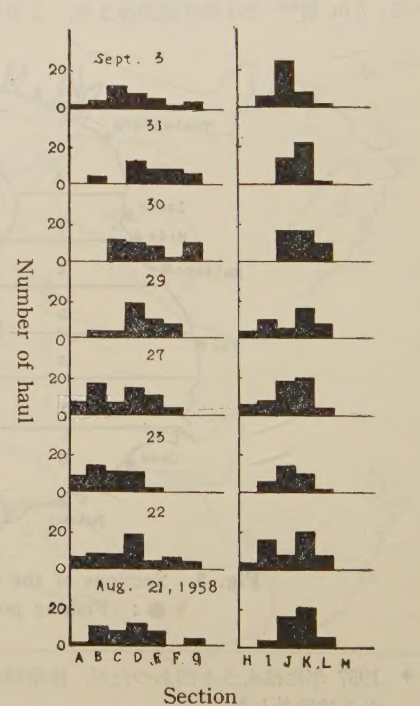
The excessive flow broke out on 8th Aug.



The excessive flow broke out on 7th Sept.



The excessive flow broke out on 25th July.



The excessive flow broke out on 25th Aug.

Fig. 4. Number of haul in each section.

われており，13 日目になると更に強く影響がおよんでいる。また 18 日目のものは 13 日目のものよりかなり高い値を示しているので，この頃には回復期に入つたものと考えられる。以上のことから，諸種の条件によつて多少のずれは有るであろうが，一応異常流出後 7～15，6 日程度の期間にその影響が 5 m 層に強くおよんでいるものと判断される。

漁場の移動　1957，1958 両年の資料から異常流出による漁場の移動について検討する。

伊勢湾を Fig. 3 に示すように南北に 7 区分，東西に 6 区分し，各区画毎の投網回数を数えその分布状態が異常出水でどのように変るかを見ると Fig. 4 のようになる。なおここではバッチ網漁船が魚群探知機を使用しているという理由から，投網回数の多少が魚群の出現回数の多少を現わすものと考える。同図からいずれの場合でも南北の移動は顕著であり，異常流出開始後 1～2 日目に湾奥の漁場（A区画）は消失し漁場の中心は南下する。この状態は異常流出がおさまるにつれて元え復するがその日数は一定していない。漁場の東西の移動はまちまちであり南北の移動程顕著な傾向は示さない。

漁獲量の変動　バッチ網漁業では魚価維持その他の理由で人為的に休業することが多く，連続して出漁しないので，漁獲量の日々の変動を見ることはできない。そこで異常流出の盛期5 日間を基準にとり，前後に 5 日ずつの区切りをつくりその 5 日間の出漁日 1 日当り漁獲量を求め，その値をもつて変動を見ることにする。

1957，1958 両年の変化の模様は Fig. 5 に見る通りである（1 網当り漁獲量を用いた)。この図から解るように両年とも異常流出後 6～15 日の期間に漁獲量の谷が現われる傾向をかなり明瞭に示している。なお 1 統当り投網回数の変化を，漁獲量の場合と同様な取扱いをして調べると，両年とも異常流出によつて大きく変化することはなく 4～5 回の値を示していた。

以上のべた漁獲量の変動は，両年の資料が伊勢湾各地の漁船から集められているので，一応伊勢湾全体の傾向を示しているものと考えられる。ところで両年の漁場図を漁期中にわたつて検討すると，富洲原および二見所属の漁船は，根拠地の地理的条件によつて制約されるためか，その操業場所がほぼ限定されていることがわかる。すなわち前者は伊勢湾の北部（磯津以北）で操業することが多く，漁場全体が南下した場合でもその北端で操業しており，後者は伊勢湾南部（津以南）がその主漁場である。また白子根拠の漁船は北部および南部の漁船と相接して操業することも有るが，概して両者の中間漁場で操業することが多い。そこで富洲原，白子，二見根拠の漁船の漁獲量を別々に取扱えば，異常流出の北部，中部，南部漁場の漁況に与え

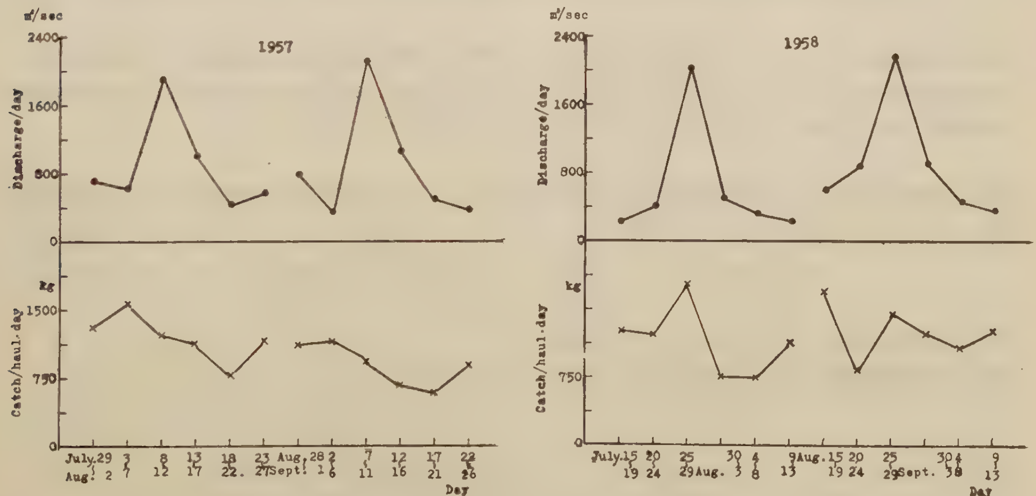


Fig. 5. The variation of average discharge and average catch per boat per day in each five day.

る影響を比較することができるであろう。

以上の観点から富洲原（1952～1958 年，ただし 1954 年は欠），白子（1952～1958 年），二見（1954～1958 年）根拠漁船の日々漁獲量を用い，前にのべたと同様な取扱いをしてその変動の模様を見ると Table 2, および Table 3 のようになる。伊勢湾北部では流出盛期の 5 日間に漁獲の減少が強く見られ，しかもそれが最低値（漁獲量の谷）を示す場合の多いことがわかる。

中部では流出の盛期に漁獲量減少の傾向がうかがわれるが，最低漁獲量は流出後 6～15 日の期間に現われる傾向が強い。南部では流出盛期における変化は余り明瞭ではないが，最低漁獲量の出現期日は中部とほぼ同じ傾向を示す。

北部漁場の，最低漁獲量が異常流出盛期に現われるという傾向は，Fig. 4 で見るようにこの期間における北部漁場からの魚群の脱出が大きく効いたために生じたのであろう（この時には海面が黄土色をしている）。すなわちこの期間の漁獲が，漁場の中心位置からはなれた北端のうすい魚群のいる漁場から揚げられたことに起因すると考えられる。

Table 2. The variation of average catch per boat per day in five days just after the excessive flow broke out.

Fishing ground	Increase	Decrease	No change
Northern part	0	9	1
Middle part	2	7	3
Southern part	0	4	5

Table 3. The time when the minimum catch appeared after the excessive flow had broken out.

Fishing ground	1st～5th day after the excessive flow broke out	6th～10th day 〃	11th～15th day 〃	16th～20th day 〃	the others
Northern part	●●●●●●●		●		●●
Middle part	● ● ●	● ⊙⊙	⊙⊙●●●● ⊙	⊙	●
Southern part	● ●	● ● ⊙	⊙ ●●●		●

⊙ denotes the time, when the minimum catch appeared, extended over two periods.

最低漁獲量が流出後 6～15 日の期間に現われるという，中部および南部漁場の傾向は，この期日が異常流出の影響が 5 m 層に強くおよぶ期日とほぼ一致するという事実によつて説明されよう。

終りに御指導をいただいた宮崎千博博士，論文の御校閲をいただいた田内森三郎博士に衷心より謝意を表する。

文　　献

1) 三重県河川課: 三重県河川一覧表，(1959).

2) 三重水試伊勢湾分場: 伊勢湾海況漁況月報，(1952～1958).

沖合で漁獲されるサケ・マス (Oncorhynchus. sp.) の成長について

田口喜三郎

(1961 年 4 月 11 日受理)

ON THE GROWTH RATE OF CATCHABLE SALMON IN OFFSHORE WATERS

Kisaburo Taguchi

In the tagging experiment for salmon in the North Pacific, the body length of tagged salmon are being measured both at the time of its tagging and recovery. Then the differences between these body lengths are considered to be the growth in the period of their migration.

Assuming that the growth of salmon in the period be expressed as $l_t = le^{Kt}$, the value of K (instantaneous growth rate) could be estimated by this formula. (l_t; Body length at the time of recovery, l; Body length at the time of tagging, t; Period by number of day).

The data used here are the results of tagging experiments carried out in the waters of Aleutian Is. from 1956 to 1958 by U. S. And the calculated growth rate are shown in Table 1. and Figure 1. In this table it is noticiable that 1) the value of K of mature salmon is larger than that of immature, and 2) the K of pink salmon is larger than those of red salmon and chum salmon.

1. 前言

北太平洋の沖合水域でサケ・マスに対し標識放流を行なうと，年内に沖合あるいは沿岸で再捕されるものと，翌年に沖合あるいは沿岸で再捕されるものとの 2 つがみられる。これらの標識魚は放流時および再捕時に体長が測定されているので，両者の間に生じた体長の差からこれらの魚の回游中の成長を知ることができる。

以下はこのような考えから標識放流試験によつて得られた資料を利用してサケ・マスの成長率について推定を試みたものである。

2. 資料

資料はワシントン大学の漁業研究所がアリューシャン列島附近で行なつた標識放流結果と，水産庁が北太平洋およびベーリング水域で行なつた結果との 2 つで，アメリカの資料としては Allan, C. Hartt (1959)[1] の報告を利用し，日本の資料としては水産庁の報告 (1961 年 1 月)[2] を利用した。

3. 考察方法

一般に魚の成長（体長）には Bertolanffy の $l_t = l_\infty[1 - e^{-K(t-t_0)}]$ が適用されている。この式は $l_{t+1} = l_\infty(1 - e^{-K}) + l_t e^{-K}$ と書き直すことができ，各年令別あるいは時期別の平均体長が明らかにされるならこの式を利用して成長を推定することができる。

しかしサケ・マスの成長にこの式を適用できるか否かは明らかでなく，またここに得られた資料ではサケ・マスの溯河 1 年前あるいは 2～3 カ月前から溯河までの短期間の成長が示されただけで，この式の適用

* 日魯漁業株式会社 (Nichiro Fisheries Co. Ltd.)

の可否をみることはできず，また適用できるだけの充分な資料となつていない。

しかし漁業上では溯河1年前から溯河直前までの魚群が漁獲の対象とされているので，資源の合理的利用という面からは，この短期間の成長状況を明らかにすることが特に重要となつている。そこでここではこの期間内だけに適用することを条件として，この期間内の成長率について考察を行なうことにした。その方法としては，放流時の体長を l，再捕時の体長を l_t，t を再捕されるまでの期間(日数)とすると，上記期間内の成長は一応 $l_t=le^{Kt}$ によつて示すことができると考えられるので，$l_t/l=e^{Kt}$，$\log l_t/l=Kt\log e$，$K=\frac{\log l_t/l}{t\log e}$ として K を求め，この K について考察することとした。ここで K は瞬間成長系数である。

次に K の値は Table 1 の再捕数で示すように多くの値が得られているが，これらの値は同一状態の魚では正規分布を示すと考えられるので，得られた値を正規分布における少数の標本とみなし，これから K の母平均の存在範囲を 0.95 の信頼度において求めることとした。

なお K の値を計算してみると，溯河1年前から溯河時まで一定ではなく，傾向としてはその年に溯河する成熟魚と，翌年溯河する未成熟魚とでは相違するようにみられるため，同一状態にある魚に区分して観察するという観点から，次の4つに区分して K を求め，K の値の時期的変化について観察することとした。

年内再捕……1. 沖合再捕の場合
　　　　　　2. 沿岸再捕の場合
翌年再捕……3. 沖合再捕の場合
　　　　　　4. 沿岸再捕の場合

4. 考　　察

標識放流はベニサケ (*Oncorhynchus nerka*)，シロサケ (*O. keta*)，マス (*O. gorbuscha*) の3魚種について行なわれ，その時期は例年5月下旬から8月中旬にかけて放流され，再捕は年内の6月から12月にかけて沖合または沿岸で行なわれるか，あるいは翌年の5月下旬から11月下旬にかけて沖合または沿岸で行なわれるかしているため，考察に当つてはまづ資料を魚種別にし，次いで前記のように再捕までの期間を4区分して考察することとした。それぞれについて K の標本平均・不偏分散・および 0.95 の信頼度における平均値の信頼区間を計算すると Table 1, Fig. 1 となる。

Table 1. Instantaneous growth rate of salmon in the period of spawning migration and a year before maturity assumed by $l_t=le^{Kt}$.　Unit: 1/100,000

By the information of U. S.

Species	Chum salmon				Red salmon		Pink salmon
Year Recovered	Same year		Following year		Same year	Following year	Same year
Position Recovered	Offshore	Coastal	Offshore	Coastal	Offshore and Coastal	Offshore	Offshore and Coastal
No. Rec.	22	52	51	26	21	19	18
Sample mean	149.8	129.6	42.7	63.4	157.7	56.0	250.5
Unviased variance	8274.5	5558.4	394.4	182.9	9147.3	331.8	35663.6
Confidencial limit	109.6 190.0	108.8 150.4	37.1 48.3	57.8 70.3	114.2 201.2	46.4 65.6	156.6 344.4

By the information of Japan.

No. Rec.		10	7			16	
Sample mean		91.3	28.1			44.2	
Unviased variance		2612.9	105.3			237.9	
Confidencial limit		54.8 127.8	18.6 37.6			36.0 52.4	

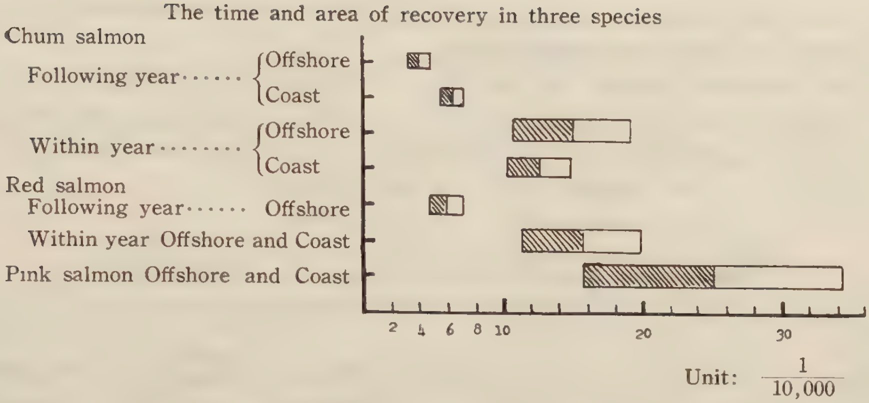


Fig. 1. Seasonal change of instantaneous growth rate (K) of catchable salmon. Bar-graphs show the confidential limit of K in 0.95 confidence. The center of bar-graph shows the mean value of K in samples.

ここで日本側の資料から得られた結果と米国側の資料から得られた結果とを比較すると，日本側の資料はいずれも多少 K の値が小さくなつている。しかし傾向としては米側のものとほとんど同様とみることができるので，日本側の資料は参考に止めることとし，以下の考察は測定数の多い米側の資料に基づいて行なうこととした。

Table 1, Fig. 1 をみると全体的な傾向として次のことが推定される。

1. 魚種別の相違‥‥成長系数 K はベニサケとシロサケとでは大差がない。マスはこれらより大きく成長の速いことを示している。

2. 期間別の相違‥‥未成熟魚が成熟するまでの 1 年間と成熟魚が溯河するまでの半年以内とでは K に大きな相違がある。

これを数字でみると，

1. 未成熟魚が成熟年を迎えるまでの 1 年間の K はベニサケ・シロサケとも大体 0.0004～0.0006 程度と推察されるに対し，成熟魚が沖合に現われてから溯河するまでの間の K は両魚種ともそれ以前の K と較べ約 3 倍の 0.0015 程度と推察される。

2. マスでは 0.0025 程度を示しベニサケ・シロサケに較べ相当に大きい。

K の変動の巾についてみると，平均値の存在範囲から考えて，未成熟魚が成熟に向う 1 年間の K の値は変動が少ないが，成熟魚が溯河するまでの間の K は標本数の多少に基づく変動を考慮に入れても大きいと推定される。

上記の観察から，次のことが考えられる。

1. サケ・マスは溯河する最後の年には高い成長率を示す。

2. Bertalanffy の式は魚体が大きくなると成長率が小さくなることを示しているのに対し，サケ・マスは生涯を終る最後の年に成長率は増大する。したがつてこの式はサケ・マスの成長を示す式としてはそのままでは利用することができない。

3. 成熟魚の K が未成熟魚の K に較べ大巾に変動していることから考えると，溯河する年の成長にはなん等かの特殊な事情が生ずるものと考えられる。

4. K の値が時期によつて変化する原因は不明であるが，溯河する年に増大することから考えると，生殖腺の発達と関係があるのではないかと思われる。

5. 増 重 割 合

資源の合理的利用をはかるためには魚の増重率を明らかにする必要がある。今これについて考えると，一

般に体長と体重との関係は $W=aL^b$ となるから，増重割合 $W_t/W=aL^b\times e^{bKt}/aL^b=e^{bKt}$ となる。ここで W は放流時の体重，W_t は t 期間後の体重である。

花村[3] は45～60 cm の体長の範囲内で適用されるサケ・マスの体長と体重との関係を次のように示しているので，この関係式から b の値を性別・魚種別に関係なく一応 3.6～3.7 と考えると，増重系数 $g=3.6K-3.7K$ となり，ある期間の増重割合 $e^{gt}=e^{3.6t}\sim e^{3.7t}$ となる。(ただし $W_t=We^{gt}$ とする)

ベニサケ　♀　$W=0.0007728L^{3.687}$　♂　$W=0.0009601L^{3.640}$

シロサケ　♀　$W=0.000863L^{3.667}$　♂　$W=0.000761L^{3.701}$

Table 2. Rate of growth in weight by period and by species.

Species	Chum salmon				Red salmon		Pink salmon	
Year Rec.	Same year		Following year		Same year	Following year	Same year	
Area Rec.	Offshore	Coastal	Offshore	Koastal	Offshore and Coastal	Offshore	Offshore	Coastal
Period Migration	30	90	365	455	30	365	30	60
K	0.001498	0.001296	0.000427	0.000634	0.001577	0.00056	0.002505	0.002505
3.6 Kt	0.1617	0.4199	0.5610	1.0385	0.1703	0.7358	0.2705	0.5411
3.7 Kt	0.1662	0.4315	0.5766	1.0673	0.1750	0.7562	0.2780	0.5561
e^{gt}	1.176 1.181	1.522 1.540	1.752 1.780	2.825 2.908	1.186 1.191	2.087 2.130	1.310 1.320	1.718 1.744

今 K の値としては Table 1 に示した標本平均を用い，t としては次の5つの場合を考えると，e^{gt} は Table 2 となり，それぞれの場合について次のように推定される。

1. 沖合に現われたベニサケ・シロサケの成熟魚が海洋で1カ月間成育した場合には 18～19% 体重が増す。

2. シロサケの成熟魚が沖合漁場に現われてから3カ月後に沿岸水域に到達した場合には 52～54% 体重が増加する。

3. 沖合水域では溯河1年前のベニサケ・シロサケの未成熟魚が成熟魚と混獲されているが，これが成熟するまでの1年間を海洋で生活した場合には 75～115% 体重が増す。

4. 溯河1年前のシロサケ未成熟魚が約 15 カ月海洋で生活し，成熟して沿岸水域に到達したばあいでは 282～290% の増加となる。

5. 溯河年を迎へたマスが溯河の1カ月あるいは2カ月前に沖合で漁獲されているが，これが沿岸に到達するまでの 1～2 カ月の間にそれぞれ 31～32% あるいは 72～74% 体重が増加する。

6. 総　　括

標識放流魚の放流時の体長を l，これが再捕された時の体長を l_t，再捕されるまでの期間（日数）を t，成長係数を K とし，これらの間には $l_t=le^{Kt}$ の関係がなりたつものとして，標識放流試験結果を利用してベニサケ・シロサケ・マスの3魚種について K の値を推定した。計算の結果は Table 1 の通りである。

この K を用いて増重割合を示したものが Table 2 である。

文　　献

1) ALLAN, C. HARTT (1959). Movement of salmon in the North Pacific Oecan and Bering Sea as determined by Tagging (1956～1958). Fish. Research Inst. College of Fish. Univ. of Wash. Circular No. 106.
2) 水産庁　1961. 日本の放流によるサケ・マス再捕資料 (1960).
3) 花村宣彦　1960. 第4回日ソ漁業委員会科学技術委員会資料，(未発表).

底曳網の網成り—I

中才 啓・鈴木乙彦・川上太左英

(1961年4月18日受理)

STUDIES ON THE CONFIGURATION OF DANISH SEINE

Kei NAKASAI, Otohiko SUZUKI and Tasae KAWAKAMI*

Considering that the various curves of a fishing net assumed in working condition can be approximated by circular arcs of different curvatures, the authors get theoretically 18 equilibrium equations in regard to the distributing tensions and the shape of the net.

From these equations, following relations between the horizontal spread of the wing and the height of the net-mouth were obtained:

1) Increasing of the horizontal spread of the wing and increasing of the stream velocity cause the lowering of the height of the net-mouth.

2) The change of the height of the net-mouth due to the change of the horizontal spread of the wing is diminished by the increase of the stream velocity.

Experiments were carried out in a water tank of circulation type with a model net designed by a box-type.

Comparing the experimental and the theoretical results, a satisfactory consequence is obtained qualitively.

緒言

底曳網の漁獲性能と密接な関係があると考えられる手木間隔や曳網速度と網口の高さとの関係は，仕立が複雑であればあるほど理論的には面倒になるが，近似的にこの関係を求めるために，著者等は底曳網の特徴を考慮して，箱形 (box-type) の模型網を作つて，流水水槽で実験を行なつた。一方，計算を簡単にするために，網具の曲線部分は円弧の一部とみなし，また嚢部の網成りは，操作中においても仕立た時の原型を保つものと仮定して，各部分ごとに釣合の式を作り，これを結合して網全体の釣合を求めた。

理論的考察

まず，Fig. 1 は上部から見た模型網の右半分で，各部に働く力，張力，長さ，角度等の記号は，Fig. 1, 2,3 に示すごとくである。ここで，F は力，T は単位長さ当りの力，すなわち張力，S は各部分の長さ，y, z, x はそれぞれ流れを横切つて水平方向，鉛直方向，流れに対して傾斜した方向の長さ，θ は各部分が流れの方向となす角度を表わし，高さの半分を h としてある。

Wing の釣合は，網巾が一様であるから川上[1] の式によつて，

$$\frac{F_w}{F_{ws}}=\frac{\tau(\theta_w)}{\tau(\theta_{ws})},\quad \frac{K_n\cdot h}{F_{ws}}\cdot S_w=\frac{\sigma(\theta_w)-\sigma(\theta_{ws})}{\tau(\theta_{ws})},\quad \frac{K_n\cdot h}{F_{ws}}\cdot y_w=\frac{\eta(\theta_w)-\eta(\theta_{ws})}{\tau(\theta_{ws})}$$

となる。ここに，関数記号は原著にしたがい，K_n は単位面積の網地に対して速度 V の流れが垂直に当つた時に受ける力であつて，次式で表わされる：

$$K_n=\frac{1}{2}C_D\rho\left(\frac{D}{L}\right)\sec\varphi\cdot\operatorname{cosec}\varphi\cdot V^2.$$

手木間隔 y については，

* 京都大学農学部水産学教室 (Dept. of Fish., Kyoto Univ., Maizuru, Japan).

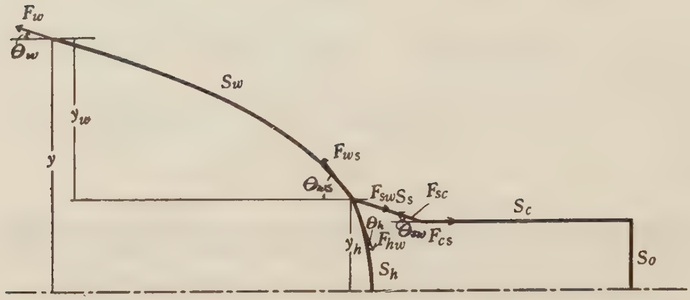


Fig. 1. Showing the top view of a half side of the model net.
Key:—*F*, force; *S*, length of the part; *y*, horizontal spread of the wing; *θ*, angle.

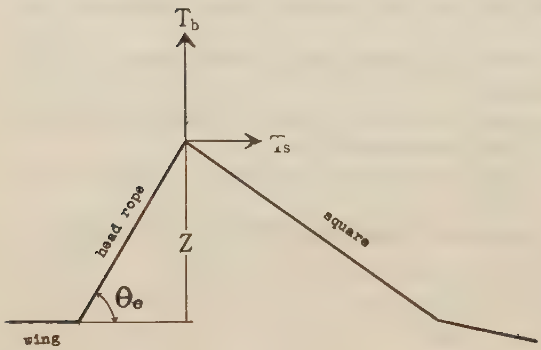


Fig. 2. Showing the shape of the head rope.
Key:—*X*, length; *θ*, angle; *r*, radius of curvature.

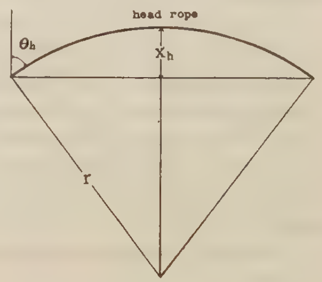


Fig. 3. Showing the side view of the net-mouth.
Key:—*T*, tension; *Z*, length of the height of the net-mouth; *θ*, angle of elavation.

$$y_h = S_s \sin\theta_{sw} + S_0 = r\cos\theta_h, \qquad y = y_h + y_w$$

となり，ここで，Square 前面における headrope は流れに対して角 θ_e の傾斜を持つ一つの平面上にあつて，その曲線の平均曲率半径を r としてある。

Wing の付根の釣合については，

$$F_{ws}\cos\theta_{ws} = F_{sw}\cos\theta_{sc} + F_{hw}\cos\theta_h\cdot\cos\theta_e,$$

$$F_{ws}\sin\theta_{ws} = F_{sw}\sin\theta_{sc} + F_{hw}\sin\theta_h.$$

Square 前面の head rope の釣合の式は，

$$F_{hw} = r\cdot T, \qquad S_h = r\left(\frac{\pi}{2} - \theta_h\right), \qquad x_h = r(1 - \sin\theta_h)$$

となり，また Square の部分を流れに平行な鉛直面に射影した時に，Fig. 3 に示すようになると考えれば，

$$\tan\theta_e = \frac{T_b}{T_s}, \qquad T^2 = T_s^2 + T_b^2. \qquad Z = x_h\cdot\sin\theta_e$$

となる。

Square のわきの部分 (throat) は，近似的に平面とみなし，

$$F_{sw} - F_{sc} = S_s\cdot h\cdot K_t\cdot\cos\theta_{sw}$$

とする。ここに K_t は単位面積の網地に対して速度 V の流れが平行に当つた時に受ける力であつて，次式で表わされる：

$$K_t=\frac{1}{2}C_D\rho\left(\frac{D}{L}\right)\tan\varphi\cdot V^2.$$

網目が正方形の場合は，K_n は K_t の2倍となる。

Square と codend との境界線の釣合は，流れの方向だけを考えて，

$$F_{cs}=F_{sc}\cdot\cos\theta_{sw},$$

$$F_{cs}=S_c\cdot h\cdot K_t+S_0\cdot h\cdot K_n,$$

$$T_s\cdot S_h=S_c\cdot S_0\cdot K_t+\frac{1}{2}\cdot K_t(S_h+S_0)\cdot S_q$$

となる。

以上に得られた 18 個の超越連立方程式を，長さに関するものを Square 部の head rope の長さ S_h で，また力に関係するものを網地の抵抗に関係する $K_n\cdot h\cdot S_h$ で割り，無次元化する。これ等の方程式を数値的に解くために，K_n および θ_h を任意に仮定して，K_n を一定に保つた時の θ_h に対する網口の高さ z/S_h と手木間隔 y/S_h との関係を求めた。その結果は Fig. 4 に示す。

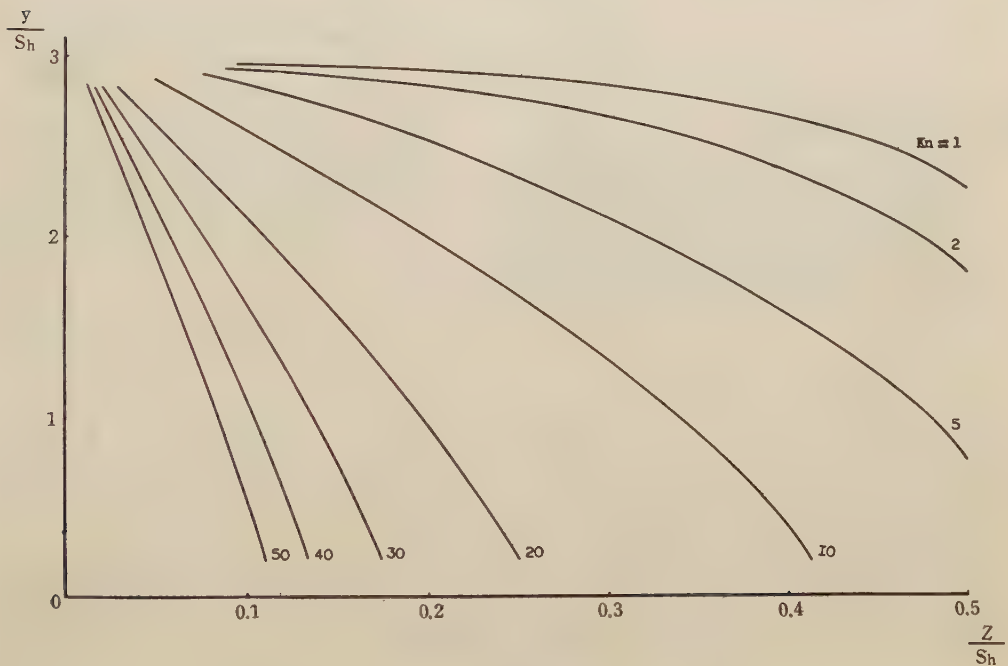


Fig. 4. Relation between K_n, Z/S_h and y/S_h

この図から，

1) 流速 (K) を一定にして，手木間隔を拡げて行くと網口の高さが低くなる。

2) 手木間隔を一定にすると，流速をますにつれて網口の高さが低くなる。

3) 手木間隔による網口の高さの変化は，流速をますにしたがつて次第に小さくなる。

ことがわかる。

実験と結果

模型網は単に上の計算結果を検証するために，全く仮想的に設計したもので， Fig. 5 に示すとおりであ

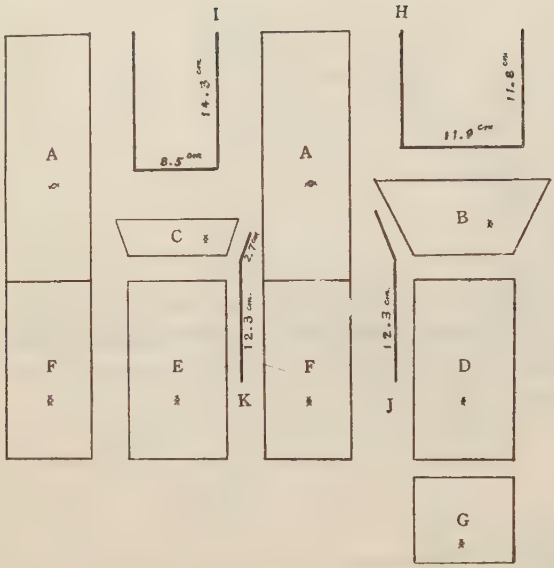


Fig. 5. Design of model net.
Key:—A, wing; B, square; C, belley; D, upper piece of the cod end; E, bottom piece of the cod end; F, side piece of the cod end; G, end piece of the cod end; H, head rope; I, ground rope; J, upper lacing line; K, lower lacing line. Netting twine, cotton; Diameter of the twine, $D=0.025$ cm; Length of the bar, $L=0.6$ cm.

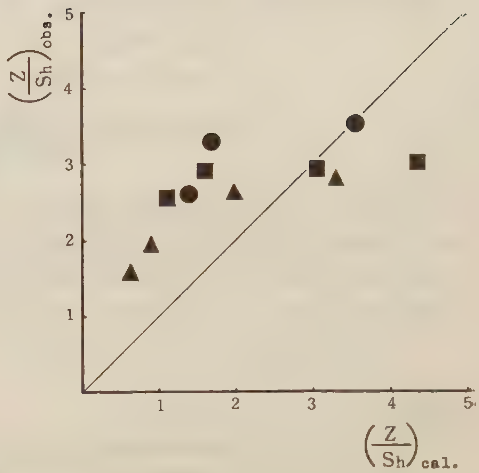


Fig. 6. Relation between the theoretical value and the observed value of Z/S_h.
Key:—Horizontal spread of the danleno: ●, 10 cm.; ■, 20 cm.; ▲, 30 cm.

る。網地および網類はすべて綿糸を使用し，浮子としてコルク，沈子として鉄線を切つて用いた。

模型網の手木間隔を一定に保つために，細い竹棒を用いて beam とし，その間隔 ($2y$) を 10, 20, 30 cm の3段階に分けて，流水々槽で流速 V を変えて得られる網成りを，側面と真上とから写真にとり，各流速に対する手木間隔と網口の高さとを測つた。

その測定値と理論式の計算値とを比較したのが，Fig. 6 である。

図をみると，実験値が理論式の計算値よりやや大きくなつているが，この原因は，まず，模型網は綿糸を使用したために固さが残り，流れに対して自然な理想的な形をとらなかつたこと，浮子の流れに対する抵抗を全然考えなかつたこと，cod end の部分の網地の張力分布の取扱いに不備があつたことによると思われる。

参 考 文 献

1) T. Kawakami: Equilibrium configuration of a rectangular strip of net subjected to a uniform current. Memoirs of the Coll. of Agri., Kyoto Univ., No. 72. 1955.

網目の大きさと漁獲される魚の体重との関係からみたサケ・マス流網の適性目合

田 口 喜 三 郎

(1961 年 4 月 20 日受理)

ON THE SUITABLE MESH SIZE ON SALMON GILLNETS INFERED FROM THE RELATIONSHIP BETWEEN BODY WEIGHT OF SALMON CAUGHT BY GILLNETS AND ITS MESH SIZE

Kisaburo TAGUCHI*

The present report is a study of the selective action of nylon gillnets for the size of salmon migrating in the North Pacific and Bering Sea.

Putting L for the body length in cm, W for the body weight in g, t for the circumference at some section of the body in mm, and n and a for the constant in the following equation, the relation exists between body weight and the length of circumference at some section of body can be written as $t = aW^{0 \cdot 36}$, because the equation $L \doteqdot nW^{3 \cdot 6}$ can provide the relation-ship between body weight and body length in salmon.

When salmon gilled by the mesh of gillnets, a circular net mark appears in wide range on the surface of the body from the head to the immediate front of dorsal fin. Hence, assuming that the mesh size shows the length of the circumference where circular net mark appeared, the value of a at any section where salmon gilled by the mesh can be calculated from the data shown in Table 1. In this table the range on the body surface where salmon gilled by the mesh is divided into five gilled girth as shown in Fig. 1 for the convenience of calculation of a. Table 2 shows the value of a for each gilled girth in three species.

1. 前 言

母船式サケ・マス流網漁業は Aleutian 列島附近の北太平洋および Bering 海を漁場として行なわれているが，この水域に来游するサケ・マスに対して最も適した流網の網目の大きさを知るために，1960 年の漁期中に 1 節の長さが 60.5 mm，65 mm，68 mm の 3 種の目合の異なる網を用い，それぞれの網の漁獲性能を比較する調査が関係漁業会社の調査船 4 隻によつて行なわれた。この調査ではそれぞれの網によつて漁獲された魚の体重が測定され，ついでこれらの魚の網にかかつた部位が記録されたため，これらの資料は網目の選択性を調べる有力な資料となつた。以下はこれらの測定値と観察された罹網部位の記録とを用いて，網目の選択性を調べ，ついで適性目合について考察を加えたものである。

2. 考 察 方 法

流網の網目にサケ・マスが刺さる場合，魚の罹網部位は魚体の大きさによつて頭部から背ビレの前端まで色々に変化する。しかし魚の体形は同一魚種では大体一定と考えられるから，網目の大きさが同じであるなら同一罹網部位で漁獲される魚の体重は大体一定でなければならない。すなわち，一定部位の太さと体重との関係は一定のはづである。

今これを理論的に考えると，魚は紡錘体であるから $S \times L = KW$ の関係にある（S は魚体の一定部位で

* 日魯漁業株式会社 (Nichiro Fisheries Co. Ltd.)

の断面積，L は体長，W は体重，K は魚体の体形によつて決められる係数)。S は一定部位の断面積であるからその部位の太さ（罹網部位の体周）を t とすると，$S = ct^2$ となる（c は断面の形によつて決められる係数)。したがつて $ct^2 \times L = KW$，$t^2 = \frac{K}{cL} W$ となる。

つぎに体長と体重との関係を考えると $W = mL^n$（$m \cdot n$ は係数）となるはづである。$L = \left(\frac{W}{m}\right)^{\frac{1}{n}}$ として上の式に入れると $t^2 = \frac{Km^{\frac{1}{n}}}{c} W^{1-\frac{1}{n}}$ となる。K, c, m, n はいずれも一定の係数であるから $\frac{Km^{\frac{1}{n}}}{c} = a^2$ とおけば $t^2 = a^2 W^{1-\frac{1}{n}}$，$t = a\,W^{\left(1-\frac{1}{n}\right)\frac{1}{2}}$ となる。

花村[1] は体長が 45 cm から 60 cm までの範囲内のベニサケ (*Oncorhynchus nerka*), シロサケ (*O. keta*) の体長と体重との関係を次のように示しているので，雌雄別に関係なく，また魚種別に関係なく $n \doteqdot 3.6$ とすると $t = aW^{0.36}$ となる。

ベニサケ	♀	$W = 0.0007728\,L^{3.687}$	♂	$W = 0.0009601\,L^{3.640}$
シロサケ	♀	$W = 0.000863\,L^{3.667}$	♂	$W = 0.000761\,L^{3.701}$

ただし W の単位は g，L の単位は cm

すなわち，魚体の一定部位の体周 t は $W^{0.36}$ に比例する。したがつて魚体の種々なる部位の t に対する a の値が求められるなら，網目の大きさと漁獲される魚の体重との関係（網目の選択性）が明らかとなる。ここでは網目の大きさが魚の罹網部位の t を示すものとして $t = aW^{0.36}$ の関係式から a を求めることとした。

3. 網目の大きさに対する体重の系数

サケ・マスが網目に刺さる部位は頭部から背ビレの前端までの広い範囲にわたつているが，適性目合を調べるための便宜措置として Fig. 1 に示すように罹網部位を区分して観察すると，罹網部位別・網目の大きさ別の漁獲物の平均体重は Table 1 となる。これは 1960 年の漁期中に調査船 4 隻が網目別の無作意標本について測定した体重を罹網部位別に整理したものである。

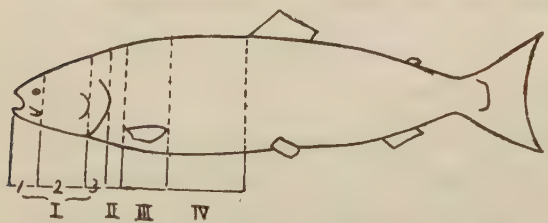


Fig. 1. The division of the range on the body surface where salmon gilled by the mesh of gillnets.
Each symbols show the ranges of gilled position.

罹網部位の区分

- I_1: 吻端より上顎の後端まで
- I_2: 上顎の後端より前鰓蓋骨の後端まで
- I_3: 前鰓蓋骨後端より鰓蓋の後端まで
- II: 鰓蓋の後端より胸ビレの前端まで
- III: 胸ビレの前端よりその後端まで
- IV: 胸ビレの後端より背ビレの付根の前端まで
- V: その他の部位

網目の大きさはこれにかかる魚の罹網部位での太さを示すと考えられるから，Table 1 は t が 60.5 mm ×4，65 mm×4，68 mm×4 の 3 つの場合のそれぞれの罹網部位での t と W とを示しており，これは $t = aW^{0.36}$ の関係式から各罹網部位での a の値を計算する資料とすることができる。そこで Table 2 にこの資料を用いて計算した a の値を表示した。

a の値は罹網部位が同じであるなら体形に変化がない限り t とは関係なく一定のはづであるが，Table 2 に計算した a の値では目合の相違によつて多少の違いがみられる。この原因は恐らく体重測定の標本の数が相違していること，および罹網部位が厳密な線をもつて決められたものでなく巾をもたせてあることにあると考えられる。したがつて 3 つの網目別に得られた値の平均を a の値とすることが適切と思われる。

Table 1. Mean body weight of salmon gilled by gillnets having three different mesh sizes, 60.5 mm, 65 mm, 68 mm, in five different gilled girths which are shown in Fig. 1. Unit: g.

Gilled girth \ Mesh size	60.5 mm			65 mm			68 mm		
	Nos.	B. W.	S. D.	Nos.	B. W.	S. D.	Nos.	B. W.	S. D.
Red salmon									
I_2	228	3118	540	94	3397	522	80	3444	563
I_3	396	2732	467	287	3103	516	201	3297	556
II	536	2363	396	530	2712	409	408	2968	442
III	554	1870	394	541	2217	425	569	2614	435
IV	509	1521	303	546	1749	351	497	2043	471
Chum salmon									
I_2	148	2921	529	51	3068	495	35	3510	538
I_3	322	2604	428	204	2977	485	112	3091	575
II	500	2355	390	377	2687	439	275	2870	436
III	557	1977	330	502	2279	390	525	2627	419
IV	408	1660	319	462	1876	326	521	2310	373
Pink salmon									
III	162	1682	259	89	1846	258	35	1942	221
IV	320	1432	197	198	1641	229	122	1795	229

Mesh size: Length of a knot in mm. Nos.: Numbers of sample.
B. W.: Body weight in g. S. D.: Standard deviation.
I_2, I_3, II, III, IV: Symbols for the gilled girth where salmon gilled by the mesh.

Table 2. Value of a in the equation of $t = aW^{0.36}$.

Species	L. C. $t_{mm} \times 4$	a: I_2	I_3	II	III	IV
Red salmon	242	13.4	14.0	14.7	16.0	17.3
	260	13.9	14.4	15.1	16.2	17.7
	272	14.5	14.7	15.3	16.0	17.5
	mean	13.9	14.4	15.0	16.1	17.5
Chum salmon	242	13.7	14.3	14.7	15.7	16.8
	260	14.4	14.7	15.1	16.1	17.3
	272	14.4	15.0	15.5	16.0	16.7
	mean	14.2	14.7	15.1	15.9	16.9
Pink salmon	242				16.7	17.7
	260				17.3	18.1
	272				17.7	18.3
	mean				17.2	18.0

t: Mesh size in mm.
L. C.: Length of circumference on each gilled girth. Other letterings: Refer to Table 1.

4. 適性目合に関する考察

3で推定したＩからⅣまでの各羅網部位の a を利用すれば，いかなる目合の網に対しても頭部から背ビレの前端までの範囲で網目にかかり得る魚の体重が推定されることになる。しかしこれで推定される体重はＩとⅣの a をみれば明らかなように広い範囲をもつているから，このままでは適性目合の判断に利用することは困難である。1つの適性目合を選定するためには，最も羅網性能のよい羅網部位の巾をどこかに定めここで羅網する魚の平均体重を判断の基礎とし，この体重と来游群の体重分布のモードにあたる体重とが一致することできめるのが合理的と考えられる。

Table 3. Mean body weight calculated from the equation of $W=\left(\frac{t}{a}\right)^{1/0.36}$

Species	$t_{mm}\times 4$ Mesh size	Body weight (W) gr					
		I_2	I_3	II	III	IV	Standard weight
Red salmon	242	2793	2532	2270	1866	1466	2068
	260	3412	3092	2769	2270	1797	2519
	272	3859	3311	3139	2574	2025	2857
Chum salmon	242	2639	2389	2211	1918	1620	2065
	260	3217	2904	2704	2328	1971	2516
	272	3643	3310	3067	2662	2250	2865
Pink salmon	242				1542	1366	1600
	260				1883	1667	1940
	272				2135	1883	2200

Standard weight shows the selectivity in each mesh size.
Standard weights in pink salmon were infered from Fig. 2.

このばあい罹網部位の巾をどこに定めるべきかについて考えると，来游群の体重分布のモードにあたる体重がＩの部位で漁獲される体重と一致すれば，このモードの体重より大きい魚は網目からはずれる可能性がある。またこれが IV の部位で漁獲される体重と一致すれば，モードの体重より小さい魚は網目を通りぬける可能性がある。II・III の部位で漁獲される体重がモードの体重と一致した場合にはこれより大きいものは I の部位で，小さいものは IV の部位で罹網する可能性が期待される。したがつて II・III の罹網部位で漁獲される体重の平均を来游群の体重分布のモードと一致させることが漁獲性能を高める方法といえる。この判断にたつと，II および III の a の平均を用いて推定される体重を，その網の選択性を示す基準とすることができる。

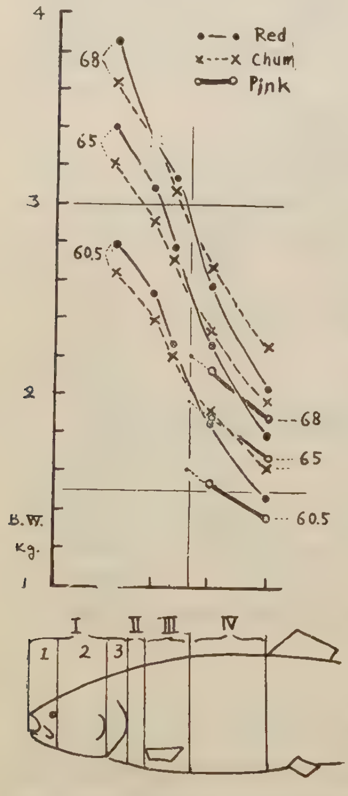


Fig. 2. Calculated body weight of salmon gilled by three different meshes, 60.5 mm, 65 mm, 68 mm, in each gilled girth from I_2 to IV.

今この試験に用いた 60.5 mm, 65 mm, 68 mm の各目合についてこの点を観察すると (Table 3, Fig. 2)，各目合の網の漁獲し得る体重の範囲は互に重複しているが，選択性を示す基準はそれぞれの目合について明確となる。しかして漁獲可能な範囲は，これを中心としてベニサケでは 35% 増までの体重が I_2 までの範囲で，29% 減までの体重が IV までの範囲で漁獲されることになり，同様にシロサケではこれが 27% 増と 21.5% 減までの範囲となる。したがつて来游群の体重組成のモードにあたる体重と，これら各目合の選択性を示す基準の体重とを比較すれば，理論的な適性目合が推定されることになる。

ここで北太平洋および Bering 海に来游するサケ・マス魚群の体重組成について考えると，来游群はいくつかのストックからなる成熟魚のほか，未成熟魚をも含むため，これらストックの出現状態によつて同一年内でも時期および水域によつて変るほか，これらストックの年令組成および来游密度の年変化によつても変化する。したがつて全水域・全漁期を通じ，更に何年かを通じてみる場合には当然このモードを示す体重はある程度の巾をもつたものとなることが考えられる。したがつて厳密な意味での適性目合というものは一定

したものではないと判断される。更に現状ではこれを明確にする方法はないから，上記の考えで適性目合を判断することは実際上不可能ということがいえる。

しかし近似的にはいくつかの目合の異なる流網を用い，この漁獲物の体重組成を調べるなら，来游群の体重分布は大凡の範囲が推定されると考えられる。この観点から 60.5mm，65mm，68mm の3つの目合の網の漁獲し得る範囲をみると，これはベニサケ・シロサケに関する限り 1600g から 3600g におよんでいるから，これらの網で漁獲されたものの体重分布は来游群体重分布の範囲をカバーすると考えられ，この組成に現われる分布の山は来游群体重分布のモードの現われる範囲を近似的に示すと考えられる。

そこでそれぞれ等しい数の3つの目合の網で漁獲したベニサケ・シロサケの体重分布を求めると Fig. 3 に示すようになる。これらの網の漁獲し得る体重の範囲は互に重復しているため，中央部にモードのできることは当然であるが最も多く出現する頻度はベニサケでは4～5‰であり，シロサケでは4～6‰となつている。このことは4‰以上の頻度をもつ部分に来游群体重分布のモードの現われる可能性の多いことを推定させる。そこで便宜上4‰以上の頻度をもつ体重の範囲をモードの現われる範囲と考えると，ベニサケでは 1.5kg から 3.0kg，シロサケでは 1.7kg から 2.8kg となる。この範囲内にどのようにモードが現われるかは明らかにすることはできないから，この変化に対応し得る唯一の網目ということになれば，上記の範囲の体重の魚を漁獲可能な範囲に入れる目合を適性目合とする以外に適切な方法はないと考えられる。

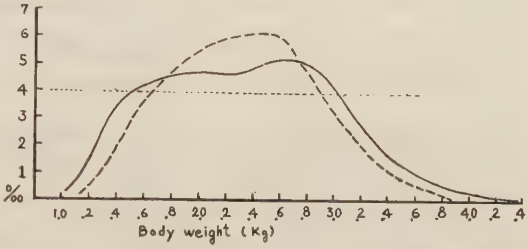


Fig. 3. Frequency distribution of body weight of salmon caught by gillnets having three different mesh sizes, 60.5mm, 65mm, 68mm.
Line····Red salmon,
Dotted line····Chum salmon.
Number of sample for red salmon; 6066, for chum salmon; 5086. Width of interval in class; 100g.

このようにみると Fig. 2 から判断してベニサケの 1.5kg を漁獲し得るものは 60.5m 目であり，3.0kg を漁獲し得るものは 65mm 目と 60.5mm 目の中間となる。シロサケの 1.7kg を漁獲できるのは 60.5mm 目であり，2.8kg を漁獲できるのは 60.5mm 目と 65mm 目との中間である。したがつて厳密な意味での適性目合を判断することは現状では不可能であるが，60.5mm から 65mm までの中間に来游群体重組成のモードをカバーする目合があると判断されることになる。

なお試験に用いた3種の目合では，マスはⅢ・Ⅳの部位でかかるだけで，Ⅱの部位でかかるものはほとんどみられていない。このことは，これらの目合がマスに対して大きすぎることを示すものと判断され，これからマスに対する適性目合は 60.5mm 以下ということになる。

文　献

1)　花村宣彦　1960. 第4回日ソ漁業委員会科学技術委員会資料（未発表）.

STUDIES ON THE RESPIRATION OF THE "KURUMA" PRAWN, *Penaeus japonicus* BATE.—II PRELIMINARY EXPERIMENTS ON ITS OXYGEN CONSUMPTION

Syuzo EGUSA*

(Received May 26, 1961)

The present report of this series describes the results of preliminary experiments on the oxygen uptake of the "Kuruma" prawn.

From the practical point of view, the most important purpose of measuring the oxygen uptake rate of a given species of aquatic animals is to determine its ability to take up oxygen when under the influence of various external factors including gradations of the concentration of oxygen itself. Measurements of the oxygen uptake rate for this purpose require consideration of the two rates of oxygen uptake, the active and the resting. But, as to the Kuruma prawn, so far as the present author knows, no work has been done in order to determine these two rates.

As is known, this species of prawn has a habit of passing the daytime in a resting state buried in the sand (EGUSA, 1960)[1]. Fortunately it maintains this habit even when being confined in a experimental container of a relatively small size. Accordingly there can be no practical difficulty in determining the resting rate. Not a few crustaceans have the same habit. But, so far is known, no attempt seems to have been made to measure their oxygen uptake during burrowing, although there is an instance where the oxygen uptake of the sand crab was measured under the conditions of its being artificially covered with sand (EDWARDS & IRVING, 1943)[2].

On the contrary, the active rate is not so easy to determine. The disadvantage lies in the fact that it is difficult to keep prawns in a continuously active condition. The author attempted to make prawns swim or crawl at a maximum steady rate by placing them in a rotating respiration chamber, as was often attempted in the case with fish (e. g. FRY, 1957; BASU, 1959)[3,4]. They did not necessarily move at a constant rate against the current of water. Occasionally they leaped violently and sometimes crouched or failed to breast the current.

Fortunately, however, it was found that prawns which were placed in a chamber without sand sufficient to permit them to hide and subjected to appropriate stimulation remained active for some considerable period of time. In the present investigation the active rate was determined under these conditions.

The investigation was carried out in September and October 1960 at the Fisheries Laboratory of the University of Tokyo located at Ikawazu, Aichi Prefecture.

---

* Faculty of Agriculture, the University of Tokyo. (江草周三，東京大学農学部水産学教室)

Materials

Young prawns, regardless of sex, of weights ranging from 3 to 18 gm. were used in the experiments. They were obtained from the shoals near the Fisheries Laboratory. They were held in a retaining tank with sand on the bottom for from one to two weeks, and were fed fish and bivalve flesh every night except the night before experimentation. The temperature and chlorinity of the tank water were varying between 22 and 24°C, and between 15 and 16‰, respectively, during the period prawns were being taken for experiments.

As was mentioned in a previous report[1], the Kuruma prawn hardly emerges out from the sand under the normal internal and external conditions in the daytime. Unhealthy individuals and those just before or after moulting, however, tend to remain out of the sand even by day. So care was taken not to use these "exposing" animals.

Method

Figure 1 shows diagramatically the apparatus used for the experiment. The respiration chamber was a round glass basin about 30 cm. in diameter and 15 cm. in depth, and was provided with a removable glass cover having a stirrer. In case of determining the resting rate the bottom of the chamber was covered with approximately 8 cm. of thoroughly washed sand. Its particle-size distribution is all the same as used in the previous experiments[1]. While in case of measuring the active rate the bottom was covered with the same sand to a depth of only a few millimeters. Prawns placed in the chamber thus prepared frequently fan the sand backwards vigorously with their pleopods in an attempt to burrow into the sand, in addition to

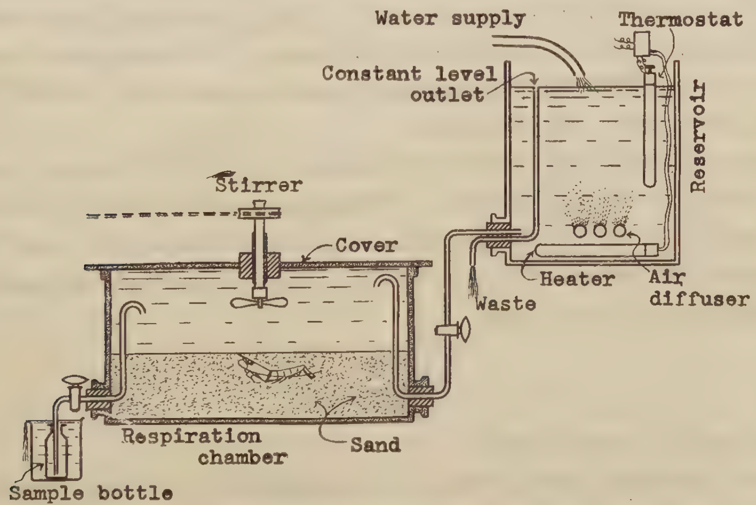


Fig. 1. Apparatus for determining the oxygen uptake rate of *Penaeus japonicus*.

crawling, swimming and jumping. Moreover, the animals were stimulated by tapping the wall of the respiration chamber periodically in the course of the experiment.

The oxygen uptake rate was determined according to the following procedure. Samples of prawns were placed in the respiration chamber through which was passed aerated sea-water. The oxygen content of the inflowing and outflowing water was determined at intervals of from 20 to 30 minutes. The rate of water flow through the chamber was measured at the time when each water sample was taken. In all experiments the flow rate was adjusted so that the oxygen concentration of the effluent water might be maintained at more than 3.8 cc./l (about 70% air saturation). Experiments were carried out with from three to thirteen individuals in the chamber at the same time (number varying according to the size of animals used), an effort being made to select prawns of similar size for any one experiment. At the end of each experiment the animals were weighed.

An attempt was also made to determine the relation between oxygen uptake and external oxygen content. The procedure was much the same as mentioned above, except that the rate of water flow through the chamber was restricted in some degree. As a result of the reduction of the flow rate the oxygen concentration of water in the chamber decreased gradually with the passage of time due to the oxygen-depleting effects of the prawns' respiration.

In all experiments the water in the chamber was gently agitated throughout the experiment so that stratification of the gas content in it might be broken up. The oxygen content of water was determined by the unmodified WINKLER method, since periodic tests for nitrite in the water proved negative.

The oxygen consumption of the sand and sea-water used was measured after each actual experiment. Although they were thought to have been contaminated in some degree by experimental animals, their oxygen consumption was usually as low as less than 1.0% of that of the animals themselves. This value was deduced from the total oxygen consumption of the animals, sand and sea-water in order to give the true oxygen consumption of the animals.

Experiments were all performed at temperatures of 22–23°C and at chlorinities of 15–16‰. In each of the experiments the difference in water temperature between the retaining tank at the time when animals were taken for experiment and the respiration chamber at the beginning of experiment was under half a degree centigrade, and that in chlorinity was under 0.1‰.

Results

1) Resting rate of oxygen uptake

It is well established in the study of the respiration of fish that handling of fish required to place them in the respiration chamber raises their oxygen consumption well above the resting level, and that the excited condition may last for some time

after they are not visibly active. Therefore the measurement of standard rate of oxygen uptake requires a delay after the introduction of the fish into the respiration chamber before measurements begin (e. g. KEYS, 1930)[5]. The same may be said of prawns, but experimental corroboration is lacking. To secure information on this problem measurement was started from about half an hour after the transfer of animals to the respiration chamber in the present experiment.

Representative results obtained for prawns of four different size groups are given in Fig. 2(A). (For the size of prawns used and experimental conditions, see Table 1) As will be seen from this figure, in every case the first hours after the introduction of prawns into the respiration chamber showed a high initial rate of oxygen uptake which gradually subsided. The rate of oxygen uptake did not approach a relatively constant value until about three hours after introduction. The author wishes to make clear that in all these cases all of the prawns introduced had buried themselves in the sand within a few minutes after introduction and remained buried afterwards. So the elevated initial rate of oxygen uptake seems to be partly due to the payment of an oxygen debt contracted by the prawns in their digging movements. In addition, handling of prawns must have been sufficient stimulus to cause them to consume oxygen at higher rates for some time afterwards. On the basis of these findings a steady level of oxygen uptake attained about three hours after the introduction of prawns was taken as the resting rate in this investigation. Practically the mean of several actual values of oxygen uptake in a steady phase was determined. The resting rates thus obtained for prawns of different sizes are summarized in the column headed "resting rate" of Table 1, from which it will be seen that the resting rate tends to decrease as the weight of the animals increases.

Table 1. Oxygen uptake rates of *Penaeus japonicus*.

Body weight gm.		Number of prawns used	Average temp °C	Average *Cl.* ‰	O_2 uptake cc./kg./hr.		Approx. O_2 level cc./l
Average	Range				Resting rate	Active rate	
3.1	2.4— 3.7	13	23.0	15.8	135	—	4.3
			22.8	15.8	—	438	3.8
5.5	4.6— 6.2	8	22.8	15.9	117	—	4.5
			22.7	15.7	—	423	3.8
11.8	11.4—12.6	5	23.0	15.7	106	—	4.2
			22.6	15.5	—	260	4.5
16.1	14.8—18.2	3	22.9	15.8	77	—	4.7
			22.6	15.6	—	312	4.2

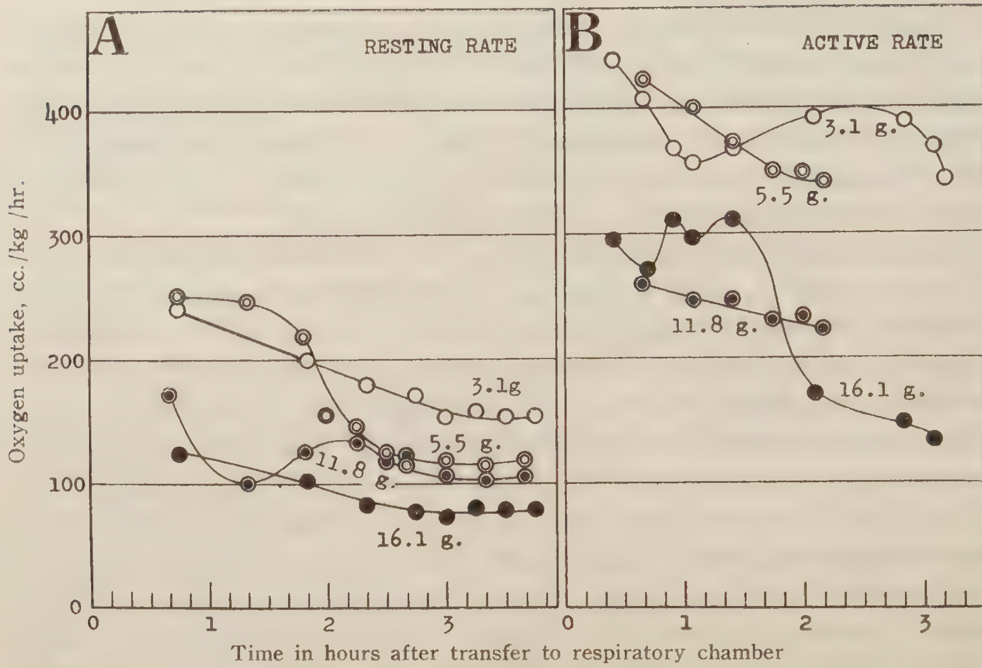


Fig. 2. Serial determinations of the resting and active rates of oxygen uptake for *Penaeus japonicus* of different sizes. Average weights of prawns are indicated by figures in body of graph.

2) Active rate of oxygen uptake

Fig. 2(B) shows the results of determinations of active rate on the same groups of prawns as before. (For experimental conditions, see Table 1) On completion of the measurement of the resting rate the prawns of each group were transferred to their respective retaining tank. On the following day determinations of their active rate were carried out.

It is seen from the figure that the active rate changes with time, too. In the present investigation the highest point on each plot was taken as the active rate. The values obtained are set down in the column headed "active rate" of Table 1. The table shows that the active rate is usually more than three times as large as the resting rate and that it has a tendency to decrease with increase in size as in the case of the resting rate.

The above mentioned changes in oxygen uptake with time seemed to reflect changes in physical activity of the animals. In an experiment on animals 16.1 gm. in average weight, for instance, all of the animals which were active at first became extremely quiet after about one and a half hours, showing only a temporary activity when stimulated. In an experiment on animals weighing an average of 11.8 gm. only two of the five animals exhibited more or less continuous activity, though their visible activity tended to decrease with time possibly owing to fatigue. The residue remained inactive throughout the experiment. The highest activity usually occurred in the

early parts of the experiment.

3) Resting rate of oxygen uptake in relation to oxygen content

The results of experiments on prawns of three different sizes are shown in Fig. 3(A), where the oxygen uptake rates obtained are plotted against the appropriate oxygen concentrations. Data on the size of prawns used and experimental conditions are summarized as follows:

Number of prawns used	Body weight gm. Average (range)	Average temperature °C	Average chlorinity ‰
12	3.5_2 (3.2–4.0)	23.1	15.8
9	5.4 (4.8–5.9)	23.0	15.7
7	13.6 (11.7–14.8)	22.6	15.7

In these experiments, measurement was started about two hours after prawns were placed in the respiration chamber. During this preliminary period, which seemed to serve to cover the stage of the initial high oxygen demand, the chamber was provided with a sufficient flow of well aerated sea-water.

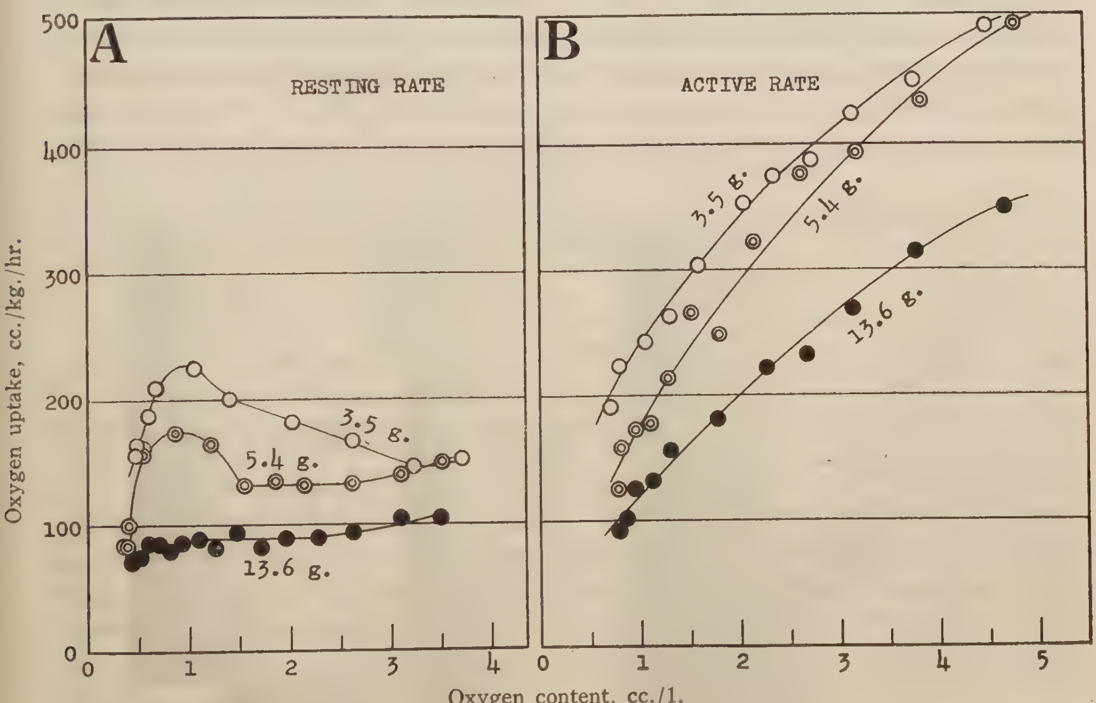


Fig. 3. Effect of the oxygen concentration of the medium on the resting and active rates of oxygen uptake in *Penaeus japonicus* of different sizes. Average weights of prawns are indicated by figures in body of graph.

As is clearly shown in the figure, the resting rate changed with oxygen content. It is worth noticing that the course of the relationship between oxygen uptake and oxygen content differs with the size of animals. The oxygen uptake rate of medium-

sized prawns (av. wt., 5.4 gm.) showed comparatively high values at oxygen concentrations about 3 cc./1. These high rates seem to be due to the initial high oxygen demand. Below this concentration the oxygen uptake rate remained relatively constant until the oxygen content was reduced to 1.5 cc./1. Below this level the rate rose rapidly with decrease in oxygen content, reaching a peak at about 1 cc./1. A further decrease in oxygen content was accompanied with a sudden fall in oxygen uptake. In small prawns (av. wt., 3.5 gm.) no steady phase in oxygen uptake was seen. At an oxygen concentration about 3 cc./1 the rate began to rise already. It passed through a maximum when oxygen content was about 1 cc./1 and finally fell off, as in the case of the medium-sized prawns. While in large prawns (av. wt., 13.6 gm.) there was found no elevation in oxygen uptake at low oxygen concentrations. The rate of oxygen uptake decreased gradually and linearly with decrease in oxygen content over the whole range tested, though it seemed to maintain a relatively constant level at oxygen concentrations from 2.5 to 1.5 cc./1.

The increase in oxygen uptake accompanying decrease in external amount of oxygen seems to reflect increase in cost of ventilation. Changes in the condition of prawns accompanying decrease in oxygen content were also observed and recorded in these experiments. The results were shown in Fig. 4, together with changes in oxygen uptake in the same way as was adopted in a previous report.[1] It will be seen from this figure that in both the small and the middle-sized prawns there is a simul-

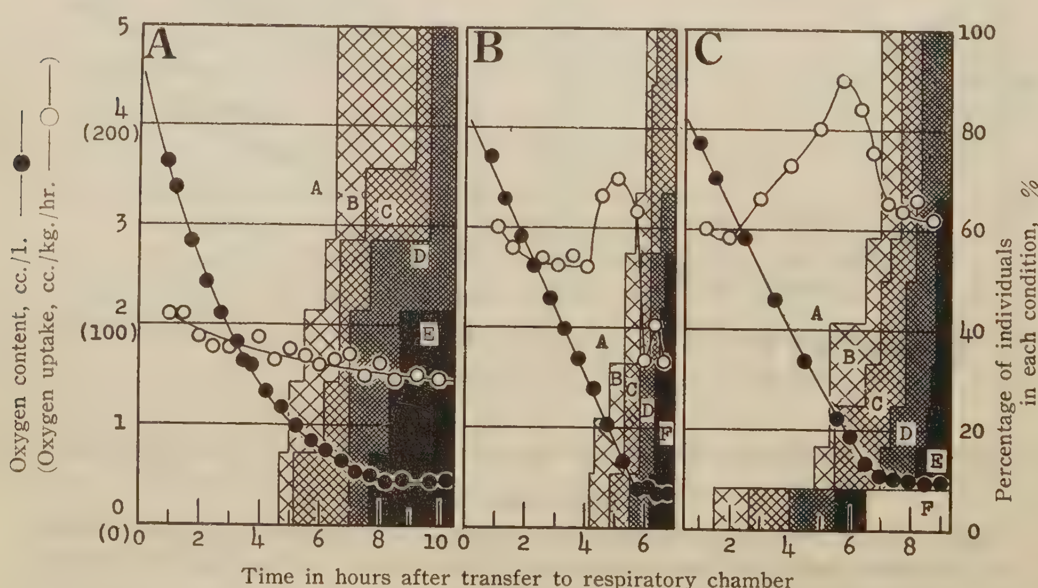


Fig. 4. Relationship between oxygen concentration, resting rate of oxygen uptake and animals' condition in *Penaeus japonicus* of different sizes. From the same experiments illustrated in Fig. 3(A). A, large prawns (av. wt., 13.6 gm.); B, middle-sized prawns (av. wt., 5.4 gm.); C, small prawns (av. wt., 3.5 gm.). Letters, A–F, denote the conditions of prawns (for explanation see a previous report[1]).

taneity between the beginning of the rise of oxygen uptake and that of the appearance of prawns on the surface of the sand. The large prawns seem not to differ significantly in their action from the others. Nevertheless, in these animals increased activity was accompanied by no elevation in oxygen uptake. The reason for this is not yet ascertained.

In the experiment on the small prawns an interesting fact was noticed by chance. One of the twelve prawns used began to emerge from the sand much earlier than the others. When the oxygen concentration of the medium was reduced to 3.5 cc./l, it had already protruded its respiratory siphon on the surface of the sand. When the oxygen content reached to 1.2 cc./l, it crept out of the sand. About half an hour later it died, although all the others still remained completely or partly buried in the sand. The post-mortem examination revealed that the prawn had been just in the stage of ecdysis. These observations seem to suggest that prawns in the stage of proecdysis or ecdysis are more sensitive and less resistant to low oxygen than those in the intermoult stage. It has been shown by Bliss (1953)[6] that in proecdysis oxygen consumption increases. As was mentioned above the oxygen uptake rate began to rise at as high an oxygen concentration as 3.5 cc./l in this experiment. This phenomenon may possibly have been related to the existence of the animal in question.

4) Active rate of oxygen uptake in relation to oxygen content

Experiments were conducted on the same three groups as before. The size of prawns used and experimental conditions were as follows:

Number of prawns used	Body weight gm. Average (range)	Average temperature °C	Average chlorinity ‰
11	3.5_4 (3.2–4.0)	22.9	15.6
9	5.4 (4.8–5.9)	22.6	15.4
7	13.6 (11.7–14.8)	22.7	15.8

The small prawns had increased in their average weight only a little (from 3.5_2 to 3.5_4 gm.), as one prawn had died during the preceding experiment as was mentioned above. The results are given in Fig. 3(B). As may readily be seen from the figure, in every case the active rate is dependent on oxygen concentration over the whole range tested. It seems likely that prawns still exhibit respiratory dependence at air saturation. The active rate of each of the small, middle and large prawns at the level of air saturation would be estimated by exterpolation to be 520, 510, and 370 cc./kg./hr., respectively.

5) Critical oxygen concentration

Various crustaceans are reported to have critical oxygen concentrations far below the air saturation level. But in some others the critical concentration is known to appear near or above it. There are even reports that no critical oxygen concentration is found in some species (cf. Wolvekamp & Waterman, 1960)[7]. In regard to the

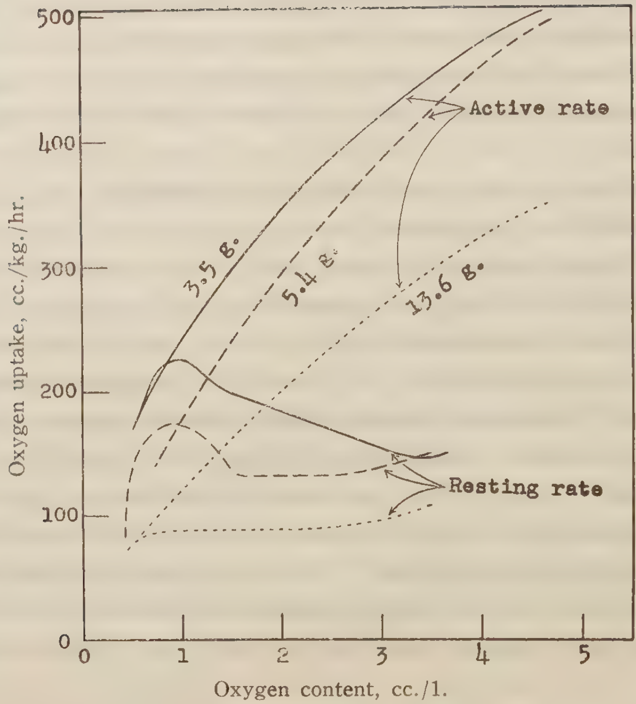


Fig. 5. Relation between resting and active rates of oxygen uptake in *Penaeus japonicus* of different sizes at different environmental oxygen concentrations. Figures in body of graph show average weights of prawns.

critical oxygen concentration in crustacenas Wolvekamp and Waterman state that the oxygen consumption in Crustacea is constant at high oxygen levels down to a P_c (critical pressure) characteristic of the specimens and conditions of experiment; below this pressure a rapid linear fall proportional to external amounts of oxygen occurs to very low levels.

The present experiment strongly suggests that the relation between oxygen supply and uptake in this species changes depending on the state or activity of animals: that is, critical oxygen concentrations appear near the air saturation level when the animals are active and near 1.0 cc. O_2/1 when they are in a resting state.

Problems of this sort have been studied in detail with fish. As a result, the following view receives general acceptance nowadays: there exist two kinds of critical oxygen concentrations for fish; the incipient limiting level and the incipient lethal level[3]. The relationships were shown intelligibly in a graphic form by Shepard (1955).[8]

Fig. 5 is a combination of Fig. 3(A) and (B). The general shape of the curves seems to resemble to that given by Shepard. From the figure it may be said that the incipient limiting levels for this prawn seem to lie in the neighborhood of the air saturation level and the incipient lethal levels are found between 1.0 and 0.5 cc./1.

Summary

1) The oxygen uptake rate of *Penaeus japonicus* BATE was studied by a flowing water method both in the case in which prawns lay hidden motionlessly in the sand, and in the case in which they were prevented from burrowing, thus being in an excited, active state. Animals used ranged in body weight from 3 to 18 gm. All experiments were performed at about 23°C.

2) Immediately after burrowing into the sand prawns showed a comparatively high rate of oxygen uptake, which gradually subsided, and reached a steady resting rate after about 3 hours. The resting oxygen uptake rates per unit weight varied with the size of animals, ranging from 77 to 135 cc./kg./hr. Increase in size was accompanied by a decrease in resting rate.

3) The following relationship was observed between external oxygen content and resting oxygen uptake rate, except in the case of large prawns. Above a certain oxygen level the resting rate is independent of the oxygen content. Below this level the rate gradually increases with decrease in oxygen content, and reaches a maximum at a certain low oxygen level, below which the rate falls rapidly.

4) The active rate of oxygen uptake is more than three times as large as the resting rate. The active rate also tended to drop with increase in size.

5) The active rate is dependent on the external oxygen content over a wide range from near air saturation down to 1 cc./l.

6) From a combination of the resting and active rates of oxygen uptake it seems that the so-called incipient lethal level for this prawn lies between 1.0 and 0.5 cc./l.

References

1) EGUSA, S.: Studies on the respiration of the "Kuruma" Prawn, *Penaeus japonicus* BATE.—I. Burrowing behaviour, with special reference to its relation to environmental oxygen concentration. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries*, **27** (1), 22-26 (1961).

2) EDWARDS, G. A. & L. IRVING: The influence of season and temperature upon the oxygen consumption of the sand crab, *Emerita talpoida* SAY. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **21** (2), 169-182 (1943).

3) FRY, F.E.J.: The aquatic respiration of fish. In: The Physiology of Fishes Vol. I, M. E. BROWN, ed. N. Y., Academic Press, 1-63. (1951).

4) BASU, S. P.: Active respiration of fish in relation to ambient concentrations of oxygen and carbon dioxide. *J. Fish. Res. Board Canada*, **16**, 175-212 (1959).

5) KEYS, A. B.: The measurement of the respiratory exchange of aquatic animals. *Biol. Bnl'.* **59**, 187-198 (1930).

6) BLISS, D. E.: Endocrine control of metabolism in the respiratory metabolism of sinus glandless and eyestalkless crabs. *Biol. Bull.* **104**, 742-743 (1953).

7) WOLVEKAMP, H. P. & T. H. WATERMAN: Respiration. In The Physiology of Crustacea Vol. I, T. H. WATERMAN ed. N. Y., Academic Press, 35-100 (1960).

8) SHEPARD, M. P.: Resistance and tolerance of young Speckled Trout (*Salvelinus fontinalis*) to oxygen lack, with special reference to low oxygen acclimation. *J. Fish. Res. Board Canada*, **12**, 387-446 (1955).

水産動物における炭酸脱水酵素の分布

清 水 千 秋・福 原 忠 信

(1961 年 3 月 9 日受理)

THE DISTRIBUTION OF CARBONIC ANHYDRASE IN SOME AQUATIC ANIMALS

Chiaki SHIMIZU and Tadanobu FUKUHARA*

The activity of carbonic anhydrase in various tissues of fishes and other aquatic animals such as crustaceans and molluscs was measured by employing the CONWAY'S microdiffusion method for the determination of the rate of liberation of carbon dioxide produced from bicarbonate by the enzyme.

Within a single species of fish, the enzyme activity in blood varied remarkably, generally the activity is stronger in larger individuals than in smaller ones. The variation of the activity between individuals was found considerable also in liver and gill lamellae, yet non in pyloric caeca, stomach, kidney, and skeletal muscle. Among these tissues, blood was found to have the strongest activity and skeletal muscle the weakest, although the dark-colored muscle exhibited the activity as strong as visceral organs.

In crustaceans, cephalopods, gastropods and bivalves, the enzyme activity was strongest in gill and much weaker in blood (Table 2 b, c and d), on the contrary to the results of fishes. The enzyme activity in the mantle of cephalopods, gastropods and bivalves was generally stronger than in the arm or the foot, and this tendency was marked in decapods whose shells were well developed (Table 2 c and d).

The enzmy activity was also found in algae as well as in higher plant (Table 2 e).

炭酸脱水酵素は MELDRUM および ROUGHTON[1] の報告以来多くの動物の血球，頭足類の鰓等諸種の生物組織中にその存在が認められている。該酵素は呼吸代謝に密接な関係を有し，生活環境，生態等の異なつた生物の間ではたとえ同じ器官組織の間でもその活性は必らずしも一様でないと考えられ，MAETZ[2]，ALFONSO および BERTRAN[3] 等は2，3の魚種の器官組織について測定しているが，このような比較定量を試みた例は少ない。そこで比較生化学的な見地からこれらの事情を明らかにしたいと考え，入手し得た魚類をはじめ数種の水棲動物の血液，筋肉の外，鰓，胃，幽門垂，肝臓等の内臓について本酵素活性の比較測定を行なつた結果について報告する。

実 験 の 部

炭酸脱水酵素活性の測定方法については MELDRUM および ROUGHTON[4] の検圧法の外，種々の方法が発表されているが CONWAY[5] は酵素作用で遊離する炭酸ガスを微量拡散分析法で定量する簡易測定法を述べている。先に著者[6]は該方法について種々検討を加え，多数の試料を簡易にしかもかなりの精度を以つて測定することができることを認めており，本法を採用することとした。すなわち上記の検討の結果にしたがい大要次のごとくして測定を行なつた。

まず酵素液，試薬等を次のごとくして調製する。

i) **酵素液試料** 血液はヘパリンナトリウムの生理的食塩水溶液 (260 U. S. P. units/ml) で内部を湿ら

* 長崎大学水産学部 (Fac. Fish, Nagasaki Univ., Nagasaki, Japan).

せた注射器を用いて鼓動中の心臓から採集した。これをそのまま直ちに，あるいは1夜 −20°C に凍結貯蔵後，蒸留水で適当濃度に稀釈したものを粗酵素液として使用した。内臓，筋肉等の場合は延髄刺殺後，目的の臓器組織を取り出し，直ちに氷冷生理的食塩水で洗滌， −20°C に1夜凍結貯蔵したものを材料とした。すなわちこれを同量の海砂と良く摩砕， 4倍量の蒸留水とよく攪拌， 1時間氷室中に放置した後遠心分離して上澄を得る。これを蒸留水で適当に稀釈し粗酵素液とした。

なお動物はすべて冬期捕獲した成体を使用し，ほぼ同体長のもの5個体の平均値をとつた。

ii) **緩衝液** M/4 燐酸緩衝液 (17.5°C において pH 6.8) を用いた。

iii) **基質液** 0.4% $NaHCO_3$ を含む N/200 NaOH 溶液を用いた。

iv) **炭酸ガス吸収用水酸化バリウム溶液** 0.005% フェノールフタレンおよび0.005% チモールフタレンを含む N/7 $Ba(OH)_2$ 溶液を用いた。

測定にはまず上記酵素液1容に緩衝液3容を加えた緩衝酵素溶液の 0.2ml を 17.5°C に調整した恒温槽中の unit 外室に入れて10分間放置した後，この外室に更に基質液 0.2ml を加え10秒間両液を良く混合した後連続振盪する。45秒後水平ミクロビュレットを用いて炭酸ガス吸収用水酸化バリウム溶液 0.15ml を内室に加える。基質液を加えてから丁度1分後に unit を蓋閉する。この際ワセリンを膠着剤に用いて気密にした。蓋閉後駒込ピペットを用いて1N H_2SO_4 0.25ml を素早く外室中に加え10秒間良く混ぜた後静置し，30分および60分後に1分間宛 unit を振盪する。酸を加えてから90分後蓋をとり，直ちに水平ミクロビュレットを使用して N/25 HCl で内室中の残存 $Ba(OH)_2$ を滴定する。この滴定値を E m*l*, 対照として酵素液試料の代りに蒸留水を使用した時の対応する滴定値を B m*l* とすると (E−B) m*l* は基質から酵素作用で1分間に逸散した炭酸ガスの量に相当する。なお酵素単位は MELDRUM-ROUGHTON unit であらわすこととした。その算出式は CONWAY の報告[5] を参考にし

$$(E-B)\times 19.4\times(\text{粗酵素液の稀釈倍率})$$

となる。

ここに注意すべきことは魚類の鰓弁，肝臓，腎臓等の場合，これらの酵素液試料には多少血液が混入していることである。この血液中の酵素活性は無視できないと思われる。そこでこれに基く誤差を少なくするため次のごとく試みた。すなわち遠心分離して透明溶液となした酵素液試料につき，オキシ型ヘモグロビンの β 吸収極大の波長 540 mμ における吸光度を同一個体の血液のそれと比較して混入血液の濃度を概算し，混入血液中の酵素に基く活性を控除して該臓器の酵素活性を求めた。

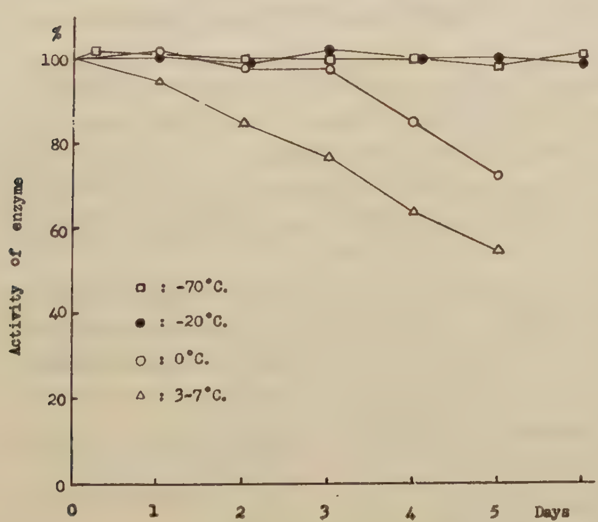


Fig. 1. Decrease in the activity of carbonic anhydrase during storage of carp blood (1340 E).

結果および考察

試料中の酵素活性は死後時間の経過とともに次第に減少するが，これは当然貯蔵温度の影響が最も大きいと考えられる。そこでまずコイの血液を使用して貯蔵温度の酵素活性におよぼす影響をしらべた。その結果は Fig. 1 に示すように −20°C 以下の温度に貯蔵した場合は6日間の貯蔵中酵素活性になん等の減少も認められなかつたが，0°C に貯蔵した場合は3日目頃から次第に減少しはじめた。なお 3～7°C ではその減少が非常に速い。他方スズキの血液でも同様の測定を試みたが， −25°C および −15°C に7日間貯蔵した後も酵素活性には全く減少が見られなかつた。このような

Table 1. Relations of carbonic anhydrase activities of various organs of fishes to their body lengths. Five individuals were used for analysis, the activity was expressed by the unit of Meldrum and Reughton.

Species name	*Lateolabrax japonicus*				*Cyprinus carpio*							
Fork length mm \ Organs	Average value 470	Standard deviation (s) 5.1	Average value 240	Standard deviation (s) 3.1	Average value 318	Standard deviation (s) 4.7	Average value 255	Standard deviation (s) 3.5	Average value 174**	Standard deviation (s) 3.0	Average value 126**	Standard deviation (s) 3.1
Blood	1510	84.3	1060	104.2	2120	101.4	1970	114.5	1246	85.7	1031	68.1
Gill lamellae	73	21.4	104	40.1	247	34.9	355	46.7				
Liver	85	15.0	95	14.3	126	12.4	235	20.3				
Pyloric caeca	90	1.2	90	2.0	149*	2.2	146*	2.8				
Kidney			192	6.4	215	4.5	213	10.3				
Ordinary muscle	25	0.4	33	0.5	16	0.3	18	0.6				
Dark-colored muscle	94	1.1	81	0.9	65	0.8	51	0.9				

*: Stomach, **: 3 individuals.

傾向は臓器等の場合にもほぼ同様と考えて，以後の実験においては貯蔵の必要ある場合，試料は測定するまで −15°C 以下に貯蔵した。

VYLEGZHANIN[7] は 8 才の牛では血液中の炭酸脱水酵素活性が 2 才の牛のそれに比べ 2 倍以上となることを報告している。そこで魚類においても同様の傾向があるか否かをスズキおよびコイを用いてしらべてみた。すなわち体長の相近い 5 個体宛を 1 群とし，体長の異なる群相互間の各臓器等の酵素活性を比較した結果を Table 1 に示す。血液では牛の場合と同様に体長の大きいものは小さいものに比して酵素活性が大きい傾向がある。ところが鰓弁，肝臓その他の臓器においてはむしろ逆の場合も見られる。ところで酵素活性の標準偏差は幽門垂，腎臓，筋肉では比較的小さい。これに反して血液，鰓弁，肝臓では大きく，酵素活性にかなりの個体差があることを示している。あるいは鰓弁，肝臓等の場合混入血液に基く誤差に対する補正が充分でなかつたためであるかも知れない。

魚類 (Table 2a) の血液，臓器組織中の該酵素の活性は測定した範囲内では単位重量当り血液が最も強く，測定した全魚種（22 種）の平均値は 1244 (510～2120) 単位となり，MELDRUM および ROUGHTON[4] が牛 6 個体の血液について測定した値 1100 (600～1800) 単位および著者が牛 4 個体について測定した値 1010 (700～1240) 単位と大差ないようであるが，同じく著者による人 8 人の血液についての測定値 550 (370～680) 単位よりはかなり強い。内臓では一般に鰓弁は最も活性強く，腎臓，肝臓，幽門垂あるいは胃等がこれに次ぎ，筋肉は最も弱い。

酵素活性は魚種によりかなりの差異がある。このことは先にも述べたごとく動物の生息環境，生態等の違いに関係するものと思われ，当初から注意を払つてきたところであるが，これといつてはつきりした傾向ともいうべきものを見出すことができなかつた。しかしながら強いていうならば次のような二三の点が指摘し得るかも知れない。たとえば淡水魚についてニジマス，アユ等の血液ならびに鰓弁中の酵素活性はフナ，コイのそれに比較して弱いことなどのように多少環境水との関連を示すごとく臆測される点もあるのであるが，何分にも限られた測定例から論断することは難かしい。

また幽門垂および胃の酵素活性は概して肝臓に近いが，特にマアナゴ，マハゼ，オニオコゼ，マコガレイ，ヒラメ，ウナギ等底棲魚種ではこれら臓器の酵素活性が強いようである。幽門垂あるいは胃の該酵素は胃酸の製造に関係しているとされているゆえ，上記の結果からあるいはこれら底棲魚種の胃酸が強いのではない

かと臆測されるが汎く胃液の pH を比較測定した上でなければ確言はできない。

筋肉特に血合肉中の酵素活性は淡水産魚種よりも海産魚種の方が強いように思われるが，限られた測定例からはにわかに結論し難い。ただ明らかなことは血合肉の酵素活性は普通肉よりも著しく強いことで，普通肉のそれに数倍する例が多く，中には肝臓のそれに匹敵する程のものもある。このことは血合肉が内臓類似の機能を有するとなす説に良く符合する。

Table 2. Carbonic anhydrase activities of aquatic organisms in the enzyme unit of Meldrum and Roughton. Five individuals were used for analysis.

(a) Pisces

Species name (Japanese name)	Fork length mm	Blood	Gill lamellae	Liver	Pyloric caeca	Kidney	Ordinary muscle	Dark-colored muscle
(Marine type)								
Clupanodon thrissa (コノシロ)	218	584	402	134	232		60	175
Astroconger myriaster (マアナゴ)	500	1950	640	315	398*	490	58	
Mugil cephalus (ボラ)	281	614	411	214			23	
Trachurus japonicus (マアジ)	173	1460	330		110		50	205
Oplegnathus fasciatus (イシダイ)	120	1820	271	20	68	198	42	
Lateolabrax japonicus (スズキ)	470	1510	73	85	90		25	94
	240	1060	104	95	90	192	33	81
Argyrosomus argentatus (イシモチ)	306	1000	186	202	201	181	44	157
Chrysophrys major (マダイ)	650	1160	115	124	119		20	131
Plectorhynchus cinctus (コショウダイ)	210	1860	192	138	117		18	213
Acanthogobius flavimanus (マハゼ)	209	2050	567	239	500*		75	
Stehanolepis cirrhifer (カワハギ)	160	1760	350	134			55	
Fugu niphobles (クサフグ)	190	801	328	31			72	
Fugu pardalis (ヒガンフグ)	186	740	304	26			50	
Inimicus japonicus (オニオコゼ)	172	1690	441	237	349		35	
Paralichthys olivaceus (ヒラメ)	282	510	261	124	298		33	
Limanda yokohamae (マコガレイ)	300	691	433	216	301		29	
(Fresh-water type)								
Salmo gairdneri iricieus (ニジマス)	250	546	98	126	138	87	44	58
Plecoglossus altivelis (アユ)	226	624	102	121	141*		51	
Carassius carassius (フナ)	150	1380	420	178	192*	292	17	50
Cyprinus carpio (コイ)	255	1970	355	235	146*	213	18	51
	318	2120	247	126	149*	215	16	65
Misgurnus anguillicaudatus (ドジョウ)	140	876		90	247*		55	
Anguilla japonica (ウナギ)	490	1090	578	209	314*		67	

*: Stomach.

(b) Crustacea

Species name (Japanese name)	Body length mm	Blood	Gill	Liver	Muscle
Neptunus trituberculatus (ガザミ)	100	4	105	28	12
Penaeus japonicus (クルマエビ)	115	16	131	15	13
Squilla oratoria (シャコ)	141	2	87	73*	39

*: Hepatopancreas.

(c) Cephalopoda

Species name (Japanese name)	Mantle length mm	Blood	Gill	Liver	Mantle	Arm
Octopus ocellatus (イイダコ)	420*	16	2060	58	62	38
Sepia subaculeata (カミナリイカ)	133	18	450	44	112	69
Sepia esculenta (コオイカ)	192	15	650	48	232	95
Ommastrephes sloani (スルメイカ)	240	16	758	156	76	68
Loligo bleekeri (ヤリイカ)	270		950	120	43	41

*: Body weight (g).

(d) Gastropoda and Bivalia

Species name (Japanese name)	Shell length mm	Blood	Gill	Liver	Mantle	Foot
Turbo cornutus (サザエ)	60		129	29	55	40
Haliotis gigontea (アワビ)	86	12	135	76	25	18
Mactra sulcataria (バカガイ)	55	17	82	23	26	44
Meretrix meretrix (ハマグリ)	24	13	99	51	51	28
Paphia undulata (アサリ)	50	6	55	50	50	28
Ostrea rivularis (スミノエガキ)	125	2	76	169	145	93
Pinctada martensii (アコヤガイ)	95		30	41	23	8
Anadara satowi (サトウガイ)	75	12	52	54	54	34

(e) Algae

Species name (Japanese name)	
Ulva pertusa (アナアオサ)	7
Enteromorpha linza (ウスバアオノリ)	8
Entesomorpha prolifera (スジアオノリ)	10
Scytosiphon lomentarius (カヤモノリ)	6
Sargassum fulvellum (ホンダワラ)	3
Porphyra tenera (アサクサノリ)	9

頭足類の鰓の酵素活性が強いことは VAN GOOR[8] その他の報告によつてすでに認められているところであるが，本実験の結果もこれと一致し，中には魚類の血液に匹敵する程の強い活性をもつものが認められる。(Table 2c)。鰓の本酵素活性の大きいことは程度の差こそあれその他の軟体類にも共通するもののごとく，これに対して血液における活性は極く弱い (Table 2c, d)。甲殻類にも上記と同様の傾向がうかがわれ，鰓において酵素活性が最も強く，肝臓，筋肉これに次ぎ血液には極く僅かしか認められない (Table 2b)。このように炭酸脱水酵素の活性が鰓に非常に強く他方血液中で非常に弱いことは開放血管系動物の特徴でもあろうか。

炭酸脱水酵素が貝殻[9,10] あるいは真珠[11,12] の生成に関与しているとの報告が多数ある。貝類についての測定結果 (Table 2c) に見られるごとく外套膜は足部よりも一般に酵素活性が強いという事実も上記の説を

支持するものであるかも知れない。また貝殻の比較的良く発達したスミノエガキ外套膜中の酵素活性が他の貝類に比べて著しく強いこと，あるいはまた甲の良く発達したカミナリイカ，コウイカの外套膜中の酵素活性がスルメイカ，ヤリイカ等のそれに比べて強いことも本酵素と貝殻あるいは甲殻の形成との関係を示唆するごとく思われる。

なお数種の海藻について本酵素活性の測定を試みた結果 (Sable 2 d)，いづれもその存在が認められた。活性の強さはこれまで陸上植物[13] について報告せられたものと大差ない。

要　　約

CONWAY の微量拡散分析法による炭酸定量法を用いて諸種水棲動物の血液，筋肉および臓器組織中の炭酸脱水酵素の活性を比較測定し，大要次のような結果を得た。

1. 同一魚種における血液，鰓弁および肝臓組織の酵素活性は個体差が大きく，殊に血液の場合体長の大きいもの程活性が大きい傾向が認められた。これに対し幽門垂，腎臓，筋肉等ではかなり一定した値を示す。

2. 魚類における酵素活性は血液が最も強く，鰓弁，腎臓，幽門垂，肝臓これに次ぎ，筋肉は最も弱い。ただし血合肉は普通肉に比して活性が著しく強く，内臓に匹敵する。底棲魚種の幽門垂および胃の酵素活性は他の魚種のそれに比べて強いもののごとくである。

3. 甲殻類，頭足類，貝類では鰓に酵素活性が強く，血液では非常に弱い。頭足類，貝類の外套膜中の酵素活性は足のそれよりも強い。

4. 陸上植物同様藻類にも酵素活性を認めた。

本文を終るに当り懇切な御指導および本稿の御校閲を賜わつた東大農学部松浦文雄教授に謝意を表する。

文　　献

1) N. U. MELDRUM and F. J. W. ROUGHTON: J. *Physiol.*, **75**, 15 P (1932).

2) J. MAETZ: *Compt. rend. soc. biol.*, **147**, 204 (1953).

3) C. G. ALFONSO and E. C. BERTRAN: *10 th Congr. intern. inds. agr. y aliment.* Madrid, 2620 (1954).

4) N. U. MELDRUM and F. J. W. ROUGHTON: J. *Physiol.*, **80**, 113 (1933).

5) E. J. CONWAY: Microdiffusion Analysis and Volumetric Error, Crosby Lockwood and Son LTD., London, 226 (1950).

6) 清水，福原： 長崎大学水産部研究報告，**8**, 270 (1959).

7) M. Z. VYLEGZHANIN: *Trudy Inst. Biol. Akad. Hank* S.S.S. R., *Ural. Filial. Sbornik Rabot*, **4**, 78 (1957).

8) H. VAN GOOR: *Enzymologia*, **8**, 113 (1940).

9) K. M. WILBUR and L. H. JODREY: *Biol. Bull.*, **108**, 359 (1954).

10) J. STOLKOWSK: *Conger. intern. biochim.*, 342 (1952).

11) T. TSUJII and A. MACHIDA: *Kagaku*, **23**, 148 (1953).

12) 生長： 本誌，**19**, 925 (1954).

13) A. G. NEISH: *Biochem.* J., **33**, 300 (1939).

$SbCl_3$–$CHCl_3$ 試薬によるコレステロールの発色の吟味

平尾秀一・菊地嶺

(1961年3月20日受理)

COLORATION OF CHOLESTEROL WITH $SbCl_3$–$CHCl_3$ REAGENT

Shuichi Hirao and Ryô Kikuchi*

By the use of chromatographically purified cholesterol, the coloration developed by $SbCl_3$-$CHCl_3$ reagent was studied. As shown in Table 1, the larger the amount of cholesterol present, the deeper becomes the pink color, the more adds an orange shade and the quicker in its development. As is shown in Fig. 1, the absorption maxima of the reaction product are found at 423 and 500 mμ. The E values calculated from each of the maximum differ depending on the reaction time of the observation, and on the amount of cholesterol used. As is shown in Fig. 2, when cholesterol is 70 micrograms per m*l*. of the reagent, the increase of absorption at both 423 and 500 mμ shows even after about 5 hours. In the case of 200 micrograms, however, the absorption at 500 mμ increases much faster than that at 423 mμ, and in contrast with the apsorption at 423 mμ that reaches an approximate constant after changing its position into 408 mμ via 415 mμ. When a color solution, the development of which is still increasing, is diluted with another aliquote of reagent, the apsorption at 423 mμ decreases in proportion to the quantity of newly added reagent, while the 500 mμ maximum does not (Fig. 3). On the contrary, a color solution, when the development of which has ceased to increase, the color is diluted in proportion to the quantity of newly added reagent.

The reaction products of cholesterol with the reagent were recovered by treating the colored solution with KOH and ether, and chromatographically separated into several fractions (Table 2 and Fig. 5).

On the basis of the data, the process of the color development of cholesterol can be traced as follows: Cholesterol → a substance with a maximum at 235 mμ → a substance with maxima at 265, 275 and 287 mμ → a substance with maxima at 292, 305 and 320 mμ.

緒言

コレステロール（以下 Chl と略す）は $SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬（Nield 試薬）によつて発色することは古くから知られており[1]，最近沼田[2]，藤田，森元[3] らは Chl 量と呈色の強さとの関係を調べ，三輪[4] は Nield 試薬をも含めた種々の試薬における Chl の呈色を検討している。しかし氏らはビタミン D の定量に関連して以上の検討をおこなつたものであるから，Chl の呈色の吟味としては，やや部分的なるを免れない。著者らは肝油不ケン化物のステロール類およびその他の未知成分の検討をおこなうために，Chl の呈色を更に吟味しておくことが必要と考えたので本実験をおこなつた。

実験材料

Chl カタクチイワシの皮からエーテルで油を抽出し，常法によりケン化し，得た不ケン化物を MeOH に溶解して冷し，析出した粗 Chl を更に数回 MeOH で再結した後アルミナクロマトグラフによる精製をおこない，m. p. 149.2°C (uncorrect) のものを得てこれを本実験に使用した。Fieser[5] によると酢酸より

* 東海区水産研究所 (Tokai Res. Fish. Res. Lab. Tsukishima, Tokyo).
東海区水産研究所業績 B 356.

再結した最純 Chl は m.p. 149.5～150.0°C（真空キャピラリー中）とされている。著者らの試料は m.p. においてこれに近く，紫外部の吸光もごく低いので，ほぼ純粋な Chl と考える。なおクロマトグラフの他の画区からはやや性状の異なる数種のステロールが少量ずつ分離されたがこれについては別報にのべる予定である。

また，別途に牛脂を同様処理して得た Chl についても実験をおこなつたが，カタクチイワシの Chl と同じ結果を得たので以下はカタクチイワシの Chl についての実験の結果をのべる。

$SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬　ビタミン A・D の比色に用いるものと同様のもので，$SbCl_3$ の $CHCl_3$ 飽和溶液。本実験には添加剤として塩化アセチルを用いず，無水酢酸を 1% 添加した。

反応温度　25°C でおこなつた。

結　　果

1）Chl の量および発色時間と色調との関係　Chl の発色は Chl の量，時間，温度などによつて呈色の状態が非常に異なる。概していえば，Chl の量がごく少ない時には発色までに長時間を要し，かつその色はうすいピンク色であり，Chl の量が多量の時は発色が早く色調が濃く，かつ橙色を呈する。また呈色は時間と共に著しく増大し，特に Chl の量が多い場合はこの傾向が著しいが，発色後 24 h (25°C) 程度経つと一応安定した状態になるのでその際の色調を示すと **Table 1** の通りである。

すなわち Chl の量が試薬 1 cc 当り 0.2 γ の場合は試薬添加直後はもちろん，24h 経つてもほとんど呈色しない。2 γ では 24 h 後ようやくうすいピンク色になる。Chl の量が多量の場合は試薬添加後約 10 min ですでに発色をはじめ，この時にはピンク色であるが，時間と共に著しく増大し，かつ黄色味を帯び，24h 後には濃い橙色になる。

Table 1.　コレステロールの量による呈色の状態の違い
Difference in color tone depending on the amount of cholesterol developed by $SbCl_3$ reagent at 25°C.

$SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬 1 cc 中のコレステロール Cholesterol per ml of $SbCl_3$-$CHCl_3$ reagent.	24 h 後 (25°C) Color observed after 24 hours.	
0.2 γ	発色せず	Colorless
2.0 γ	ごくうすい淡紅色	Faint pink
20 γ	淡紅色	Pink
70 γ	〃	Pink
210 γ	鮭紅色	Salmon pink
3 mg	橙黄色	Orange

このように Chl の発色は少量の場合と多量の場合とでは異なるので，二，三の予備試験の後 Chl の少ない場合として 70 γ/cc，多い場合として 200 γ/cc のものにつき，吸収スペクトルの時間的変化の吟味をおこなつた。**Fig. 1** この両者につき，それぞれ発色後，30 min，2 h の吸収スペクトルを **Fig. 1** に示す。図の縦軸はもとの Chl に対する $E^{1\%}_{1\,cm}$ で示した。

すなわち 70 γ/cc の場合は，図の実線のごとく，発色後 30 min では 500 mμ に主極大，420 mμ 附近に第 2 の極大を有し，両極大共時間と共に増大をつづける。また，200 γ/cc の場合は，図の点線のごとく発色後 30 min では前の場合に比して発色が強く，2 h 後には 70 γ/cc の場合とかなり異なつた吸光曲線を示す。

以上の関係をグラフに示せば **Fig. 2** のごとくである。すなわち 70 γ/cc の場合には発色後 5～6 h で両極大共増大がゆるやかとなり，15 h 程度経つと，それぞれほぼ一定に近い値となる。

次に 200 γ/cc の場合には，発色後短時間の間は 500 mμ の極大が 423 mμ の極大よりも高いが，後者の増大が早いために間もなくこの逆となる。しかしその後 423 mμ の極大は増大を停止し，やがてやや低下して 415 mμ に移り，以後はあまり変化せず 24 h 後には 408 mμ に移る。一方 500 mμ の極大は発色後指数直線的に増大し，70 γ の場合に比してはるかに高い E 価を示す。

なお，本実験の 5 時間以後は呈色が濃厚に過ぎて原液のままでは測定できない。しかしこの場合，呈色液

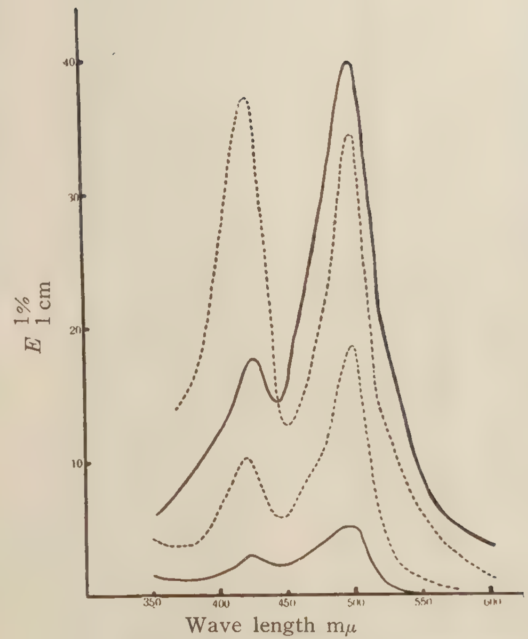


Fig. 1. **$SbCl_3$ 試薬によるコレステロールの呈色物の吸光曲線**
実線は 70 γ/cc, 点線は 200 γ/cc, おのおの下方の線は試薬添加後 30 分, 上方の線は 2 時間後の吸光曲線。
Absorption spectra of color reaction products of cholesterol with $SbCl_3$-$CHCl_3$ reagent.
Solid lines: 70 micrograms, dotted lines: 200 micrograms of cholesterol per ml. of the reagent. Lower lines of the both show 30 min., upper lines 2 hrs., after the addition of the reagent.

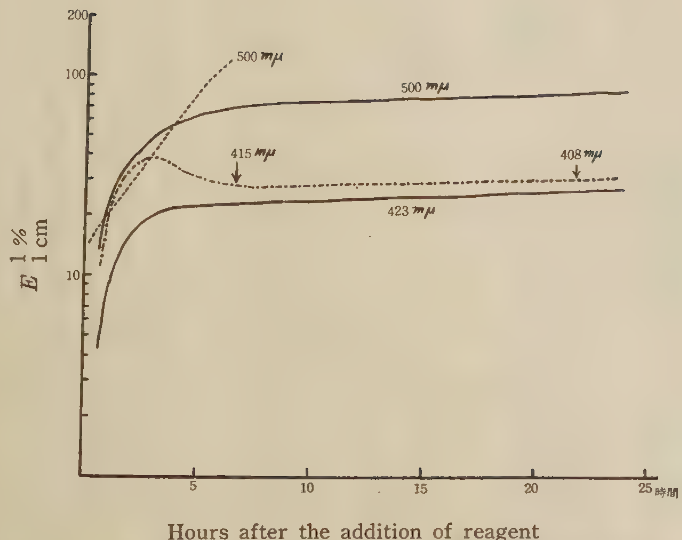
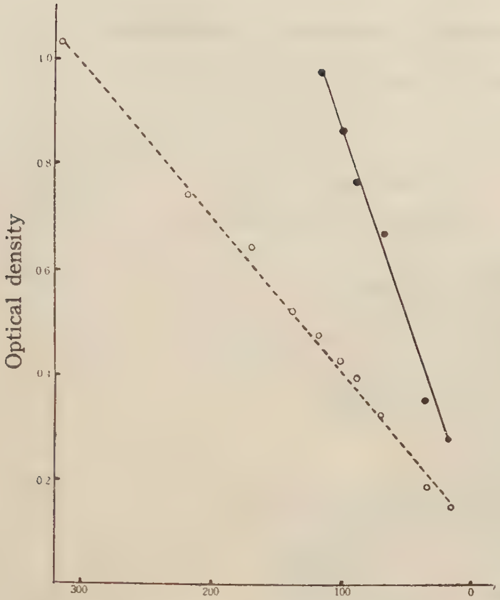


Fig. 2. **$SbCl_3$ 試薬によるコレステロールの呈色物の吸光値の時間的変化**
実線 70 γ/cc, 点線 200 γ/cc
Relation between the time and the color development of cholesterol with $SbCl_3$-$CHCl_3$ reagent.
Solid lines: 70 micrograms, dotted lines: 200 micrograms per ml. of the reagent.
In the case of the latter the 423 mμ maximum was observed to move to 415 mμ and finally to 408 mμ.

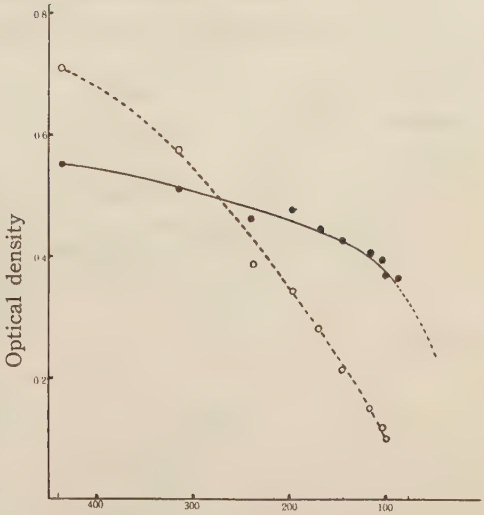


Dilution expressed in microgram of cholesterol per ml. of the reagent.

Fig. 3. 発色増大中の液を更に $SbCl_3$ 試薬でうすめた時の *E* 500 mμ (実線), *E* 423 mμ (点線) の変化。

Change of the absorption at 423 mμ and 500 mμ with dilution of the reaction mixture in which the coloration is still increasing. The former decreased in proportion to the quantity of newly added reagent, while latter out of proportion.

Solid line: 500 mμ. Dotted line: 423 mμ.



Dilution expressed in microgram of cholesterol per ml. of reagent.

Fig. 4. 発色報大がほぼ停止した液を更に $SbCl_3$ 試薬でうすめた時の *E* 500 (実線), *E* 408 mμ (点線) の変化。

When the coloration has ceased to increase about 24 hours after addition of the reagent, absorption at 408 mμ and 500 mμ of which decreases in proportion to the quantity of the newly added reagent.

Solid line: 500 mμ. Dotted line: 408 mμ.

を稀釈すると，*E* 500 mμ と *E* 423 mμ との比率が変化することを認めたので，次にこの点を吟味した結果をのべる。

2) 呈色液を稀釈した時の吸光値の変化

i） 発色初期には前記のように 500 mμ, 423 mμ 両極大の吸光値が急激に増大してゆくが，この呈色液を試みに $SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬で種々の濃度に稀釈してみたところ **Fig. 3** の結果を得た。すなわち 423mμ の極大はうすめるにしたがつて比例的に減少してゆくが，500 mμ の極大ははるかに減少し難い。すなわち Chl と $SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬の比率が変るにしたがつて新たに反応が追加されてゆくごとき様相を呈することが観察された。

ii） これに反して発色後 1 昼夜程度経過 423 mμ の極大が 408 mμ に移つて一応安定状態となつたものを $SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬で順次稀釈を試みると **Fig. 4** に示すように *E* 500 mμ, *E* 408 mμ 共，比例的に稀釈されてゆくことが知られた。

3) 反応生成物の検索

以上のごとく $SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬による Chl の呈色は濃度，時間等によつて変化することが知られたが，この機構の一端を知る目的で反応生成物の回収実験をおこなつた。

すなわち Chl 327 mg に $SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬 100 cc を加え，20°C にそれぞれ 1.5 h (Sample I とす

Table 2. 呈色反応生成物をアルミナクロマトグラフィーにより分画した各画分の性状

Fractions separated chromatographically from the products of cholesterol reacted with $SbCl_3$-$CHCl_3$ reagent.

Sample	Fr. No.	展開剤 Solvent used	乾固物の外観 Appearence of the substance	収量 Yield %
I Reacted for 1.5 hrs.	1	Petro-ether	淡黄色，油状 Pale yellow, oily	14.1
	2	Petro-ether～ 10% Ether Petro-ether	淡黄色，不定形の固体 Pale yellow, solid, m.p. 110°C	40.6
	3	10% Ether Petro-ether	黄褐色，油状 Yellowish brown, oily	2.2
	4	20% 〃	淡黄色，油状（微量） Pale yellow, oily	1.4
	5	30% 〃	同 上 Same above	2.6
	6	50% 〃	白色不定形の固体 white, solid, m.p. 139～144°C	38.1
	7	Ether	淡黄色，油状（微量） Pale yellow, oily	1.0
II Reacted for 24 hrs.	1′	Petro-ether	黄褐色，油状 Brownish yellow, oily	38.1
	2′	Petro-ether～ 10% Ether Petro-ether	淡黄色，不定形の固体 Pale yellow solid m.p. 95～109°C	41.6
	3′	10% Ether Petro-ether	淡黄色，油状（微量） Pale yellow, oily	0.2
	4′	20% 〃	同 上 Same above	3.5
	5′	30% 〃	淡黄色，油状 Pale yellow oily	4.2
	6′	50% 〃	やや黄を帯びた白色不定形の固体 Yellowish white solid, m.p. 134～138°C	8.9
	7′	Ether	淡黄色，油状（微量） Pale yellow oily	trace

る)，24 h (Sample II とする) 保つた後，KOH とエーテルを用いて $SbCl_3$ を分解してステロールを回収し，黄褐色油状物を得た。回収率は原料 Chl に対しそれぞれ，97.2% であつた。

次に I，II をそれぞれ石油エーテル溶液としアルミナのカラムクロマトにかけ，エーテル・石油エーテル混液をもつて順次展開し Table 2 のごとき画分を得た。この各画分の紫外部吸収スペクトルは Fig. 5 の通りである。なお，図には原料 Chl の吸収スペクトルをもあわせて示した。

それぞれの画分のうち，量的に多いものは 1, 2, 5, 6 および 1′, 2′, 5′, 6′ であり，試料 I，II の各画分の組成を比較すると，1′ は 1 よりもかなり増加し，反対に 6′ は 6 よりも著しく減少し，2, 2′ および 5, 5′ においては大きな差異がない。吸収スペクトルから見て，1, 1′ は類似の共役化合物，2 はそれと別の共役化合物と考えられる。ただし 1, 1′ と 2 とは極大の位置がかなり一致しているから，1, 1′ の中にも相当量の 2 が混入しているのかもしれない。2′ は 2 とはまた別の共役化合物であろう。

5, 5′ は類似の非共役化合物，6, 6′ は未反応の Chl と考えられる。

以上の結果から考えると，Chl の発色の経過中に，Chl → 235 mμ に大きな吸収をもつ物質 → 265, 275, 287 mμ に極大をもつ物質 → 292, 305, 320 mμ に極大をもつ物質を順次生じてゆくのではないかと想像される。

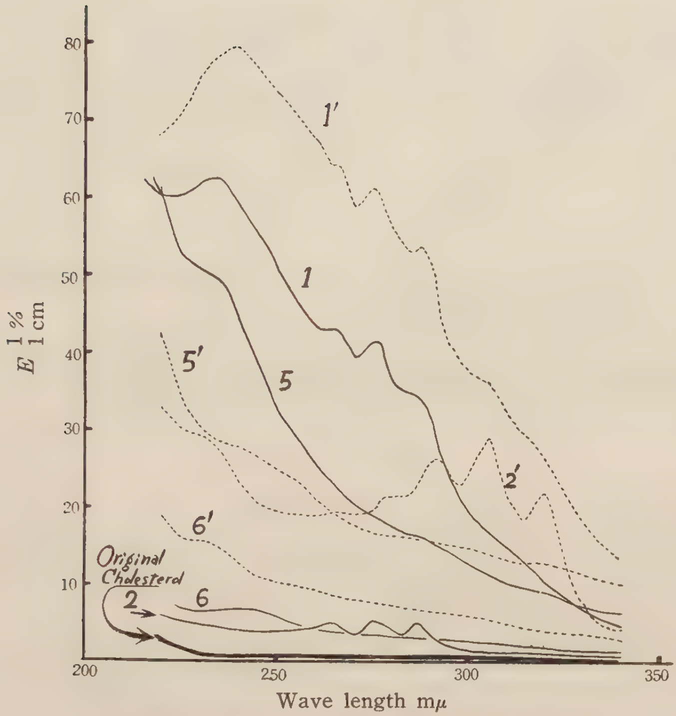


Fig. 5. 呈色反応生成物各画分の吸光曲線

Absorption curves of the fractions chromatographically separated from the reaction products of cholesterol with $SbCl_3$-$CHCl_3$ reagent. Solvent: ether. On the numbers of fractions see Table 2.

考　　察

Chl の比色定量には，氷酢酸―硫酸混液による Lieberman-Burchard 反応を利用する方法が古くから用いられ，その呈色機構も詳細に吟味されているが，$SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬におけるものははなはだ少ないのは Siblikovà[6] もいうごとく，Chl の定量のためには，$SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬も便利さの点で硫酸試薬と大同小異であり，特に硫酸試薬をすてて，$SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬を採用する程の理由がないためであろう。

$SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬により発色する物質はビタミン A, D, Chl のみに限らず，はなはだ多種類にのぼつている。しかしその呈色物の吸収スペクトルや呈色の時間的変化などは物質によりそれぞれ異なつているから，今後肝油中の未知成分を検索する上にこの試薬を応用することは一つの有力手段と考えられる。本報はこの意味で Chl の呈色につき従来知見の不充分であつた点を吟味したもので Chl の比色定量法の作成を目的としたものではない。

本実験の結果に明らかなように，Chl は量によつて発色の様相が異なり，また時間と共に種々の中間体を生ずるため定量的な再現性を望むのは困難であろうが，しかし本報のごとき定性ないし半定量的な知見の範囲でも，肝油不ケン化物に関する今後の研究に多少の寄与をなしうるものと考える。

摘　　要

アルミナクロマトにより精製したコレステロールを用いて $SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬による発色を検し次の結果を得た。

1) コレステロールの量が $SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬 1 cc 中 2 γ 程度の場合は 24 h 放置後にようやく発色するが，量が多くなるにつれて発色が早く，時間と共に濃厚になり，かつ黄色味を帯びる。

2) 呈色物の吸収極大は 500 mμ および 423 mμ にあるが，それぞれにおける E 価およびその時間的変化はコレステロールの量の少ない場合と多い場合とで著しく異なる。

3) 発色増大状態にある呈色液を再び $SbCl_3$-$CHCl_3$ 試薬で稀釈すると，423 mμ の E 価は稀釈に比例して低下するが，500 mμ の E 価ははるかに低下し難い。これに反し発色が安定状態となつたものは両者共比例的に稀釈される。

4) 呈色液を KOH で分解して，ステロールを回収し，アルミナクロマトにより検索し，数種の共役化合物を得，呈色反応は，コレステロール → 235 mμ → 265, 275, 287 mμ → 292, 305, 320 mμ にそれぞれ極大を有する物質を生ずる方向に進むものと想像した。

本研究にあたりご指導をいただいた東秀雄利用部長に厚く御礼申し上げます。

文　　　献

1) ZIMMERLI, NIELD: *J. Biol. Chem.*, **148**, 254 (1943).
2) 沼田克彦: ビタミン, **11**, 5, 439 (1956).
3) 藤田秋治，森元博久: ビタミン, **21**, 1, 65 (1960).
4) 三輪勝利: ビタミン, **14**, 6, 755 (1958).
5) Cholesterol (1958), Academic Press Inc., p. 24 より引用.
6) O. SIBLIKOVA and I. M. HAIS: CA 10495 f (1958), *Ceskoslov, farm*, **7**, 1～13 (1958).

塗料原料とする魚油塩素化物の製造に関する研究—XII.
魚油塩素化物配合塗料を塗布した木片の燃焼温度について

鈴 木 康 策

(1961 年 3 月 20 日受理)

PREPATION OF A COATING MATERIAL BY CHLORINATION OF FISH OIL—XII.
TEMPERATURE DURING COMBUSTION OF A WOODEN PLATE PAINTED WITH A COATING MATERIAL CONTAINING A CHLORINATION PRODUCT OF FISH OIL

Kosaku Suzuki

The fire-retardative effect which was produced by dissolving the chlorination product of fish oil in commercial paints was tested. In order to test on transparent coating films, paints which are freely mixible with the chlorination product were used.

Wooden test plates were coated with ordinary paints mixed with or without the chlorination product. After the coatings perfectly dried up, coated sides of the plates were heated at 550°C. for 180 seconds by an electric furnace. During the combustion of the test plates, the temperature of the burning surface was measured without stopping to heat by the furnance. Test plates coated with a paint containing the chlorination product remained at far lower temperature than the plates coated with ordinary paints did. In other words, the chlorination product has been found effective to give fire-retardative property to an ordinary paint. It should be dependent on practical uses how mach chlorination product is adequate to give sufficient fire-retardative property to a coating material.

前報[1]に述べた実験では，塗装木片の高温加熱のとき，魚油塩素化物を配合した塗料を塗布したものはかえつて短時間で発焔燃焼に達して，魚油塩素化物が塗料の燃焼性を助長するかのように見受けられた。しかし，発焔燃焼の状況を観察するに，魚油塩素化物を混合した塗料の発焔はきわめて弱々しく，火焔も断続的であり，加熱中止と同時に消失したが，魚油塩素化物を混合しない塗料の発焔燃焼は激烈であり，特にボイル油の場合は爆発的な発焔を見た。この場合でさえ魚油塩素化物を混合したものの発焔ははなはだ微弱なものであつた。このように魚油塩素化物の防火性は肉眼的に観察されたが，塗料に魚油塩素化物を混合した場合としない場合では燃焼中の温度が違うのではないと考えられる。もしそうなら，塗装木片が加熱され，燃焼しているとき，燃焼面における温度変化を測定し，これによつて塗料に対する魚油塩素化物の防火性を検討することができるものと考えて本実験を行なつたが，塗料の防火性を示すには発焔燃焼に要する加熱時間のほかに，本実験のような燃焼中の温度測定も必要であることがわかつた。

実験および結果

実験に使用したスギ板，魚油塩素化物と試験塗料との混合，および塗装の要領は前報[1]のとおりである。塗装木片（試験片，対照片とも）を 550°C の定温で加熱し，発焔したのちも加熱を継続したままで 180 秒

* 東京水産大学沼津実習場 (Numazu Fish. Lab., Tokyo Univ. Fish., Numazu, Shizuoka Pref., Japan).

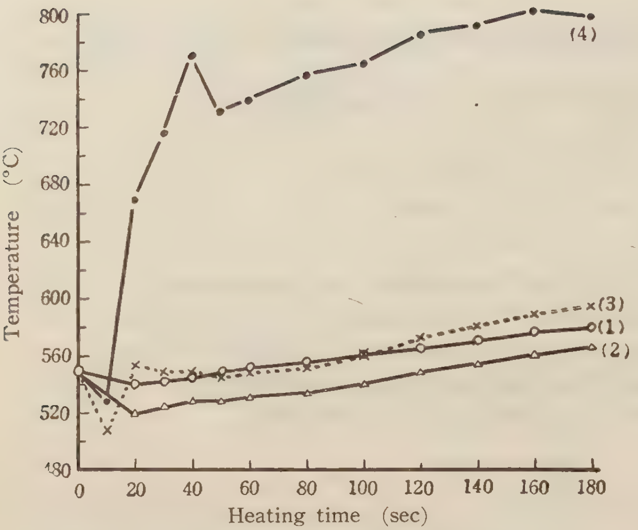


Fig. 1. Temperature during combustion of wooden plates painted with mixtures as indicated on Table 1. Numbers are correspond with those of Table 1.

Table 1. Mixtures used for the experiment of Fig. 1.

No.	Composition of coating material		Weight of film coated on a wooden plate
	Boiled oil	Chlorination product of fish oil	
(1)	1g	1g	3.7g/100cm²
(2)	〃	2	3.6
(3)	〃	2*	3.5
(4)	〃	0	3.5

* A chlorination product at an early stage of the author's study. Its melting point is 53～54°C.
Melting point of the product of No. 1 and 2 is 220～222°C.

間燃焼面の温度を測定した。ボイ油ルの場合を Fig. 1 に示した。この図の (1)～(4) の番号は Table 1 の番号に対応するもので，ボイル油と魚油塩素化物との混合割合の区別を示すものである。なお，魚油塩素化物の溶剤としてはなるべく不燃性のものという目的からテトラクロルエチレンを使用した。 Fig. 1 で見ると加熱初期に一時温度が降下しているが，これはあらかじめ 550°C に保持された電気炉の加熱部に，室温にある塗装木片を急にセットするためであり，また熱分解によつてはじめは比較的低温のガスが発生するためである。ここに発生した混合ガスのいかんによつて燃焼中の温度が Fig. 1 の (1)～(4) のようになる。(4) はボイル油のみを塗装した場合であるから，激しく発焔燃焼して直ちに高温に達する。加熱を中止しても発焔燃焼は継続した。同図の (1)～(3) の場合も 10 秒内外の加熱時間で発焔燃焼を起したが，180 秒加熱し燃焼を続けても，火焔の温度は 600°C に達しない。火焔の勢いは弱く，もし加熱を中止（炉より燃焼木片を取りはづす）するならば，火焔は瞬時にして消失する。同図 (2) においては燃焼中の加熱を中止しなくても，火焔は 20 秒ぐらいしか継続せず，その後は無焔燃焼を続けるに過ぎない。(1)～(3) を (4) と比べて見れば，魚油塩素化物を配合したボイル油が防火性となることが明瞭にわかる。(1) と (2) の比較のように，魚油塩素化物の混合率が大となれば，当然防火力も増強する。(3) と (1) を比べれば，加熱時間の 100 秒以前における防火性の強弱は見わけにくいが，加熱が長びくと (1) のほうがすぐれていることがわかる。しかも，(1) の魚油塩素化物の混合率は (3) の場合の半分であるから，(3) と同じ防火性を持たせるのに (1) の場合は半分の混合率でよいことになる。つまり (3) に用いた魚油塩素化物は研究初期[2] のもので，耐熱性が改善される前のものである。また，(3) の場合は塗膜の乾燥にも (1) より日数が長くかかり，かつ 90°C 以下において[3]の塗膜は軟化するが，(1), (2) の塗膜は軟化しなかつた。このほか，魚油塩素化物，ボイルの 2: 1 の混合物と，市販エンパラ 70，ボイル油の 2: 1 の混合物，および市販の防火塗料につき，その防火性を比較するため，Fig. 1 のときと同様にして塗装木片燃焼中の温度を測定したが，結果は Fig. 2 のとおりで，魚油塩素化物配合のボイル油の防火性がすぐれているものと認められる。この実験における塗膜重量は市販防火塗料については 3.7g/100cm²，他のものは 3.5～3.6g/100cm² であつた。同図 (1) 用いた市販防火塗料は酸化ア

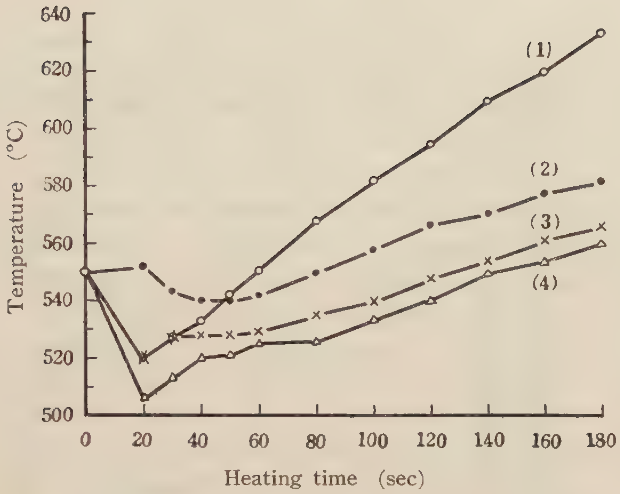


Fig. 2. Temperature during combustion of wooden plates painted with fire-retardative materials.
(1) ordinary commercial fire-retardative paint, "Chitan-shiro" containing inorganic pigment.
(2) boiled oil mixed with commercial fire-retardative material "Empara-70".
(3) boiled oil mixed with a chlorination product of fish oil.
(4) Tin plates were used instead of wooden ones in the case of (3).

ンチモン，塩素化パラフィン，フタル酸樹脂を主成分とするもので，防火塗料としてはごく普通のものである。同図の (3)，(4) は全く同じ塗布物を用いたのであるが，(3) はスギ板に塗布した場合で，(4) はスギ板に張りつけたブリキに塗布した場合である。(3) のほうが全体として高温になつているのは，塗膜の燃焼に対し，スギ板の燃焼が影響しているためであろうと推察される。

ボイル油に対する魚油塩素化物の防火効果が上述のように確認されたので，他の市販塗料について，塗料1に対し魚油塩素化物2の割合（重量比）で混合したものと混合しない塗料につき，Fig. 1 ボイル油の場合と同様にして燃焼中の温度変化を求めた。結果は Fig. 3 の (1)～(5) のとおりである。魚油塩素化物の溶剤としてテトラクロルエチレンを使用したのは前述同様であるが，塩化ビニール塗料の場合はその溶解性の関係でトリクロルエチレン 15 に対し酢酸ブチル1の混合溶剤を用いた。各試験塗料の塗布量は Table 2 のとおりである（塗膜乾燥後の重量を示)す。Fig. 3 の番号 (1)～(5) は Table 2 の番号に対応する。

Table 2. Weight of film coated on a wooden plate in the experiment of Fig. 3.

No.	Paints	Weight of film coated on a wooden plate
(1)	Vinyl chloride resin paint	3.2～3.4g/100 cm²*
(2)	Spar varnish	3.3～5.0
(3)	Polyester resin paint	2.8～3.2
(4)	Melamine resin paint	3.2～4.4
(5)	Phthalkyd	3.5～3.9

* wt. after drying

Fig. 3 を見ると，(2) のスパーワニス，(5) のフタル酸アルキッドに対する防火効果は最も顕著であり，(4) のメラミン樹脂塗料，(1) の塩化ビニール樹脂塗料に対しても相当の防火効果が認められるが，(3) のポリエステル樹脂塗料に対しては防火性を附与する効果が不明瞭である。

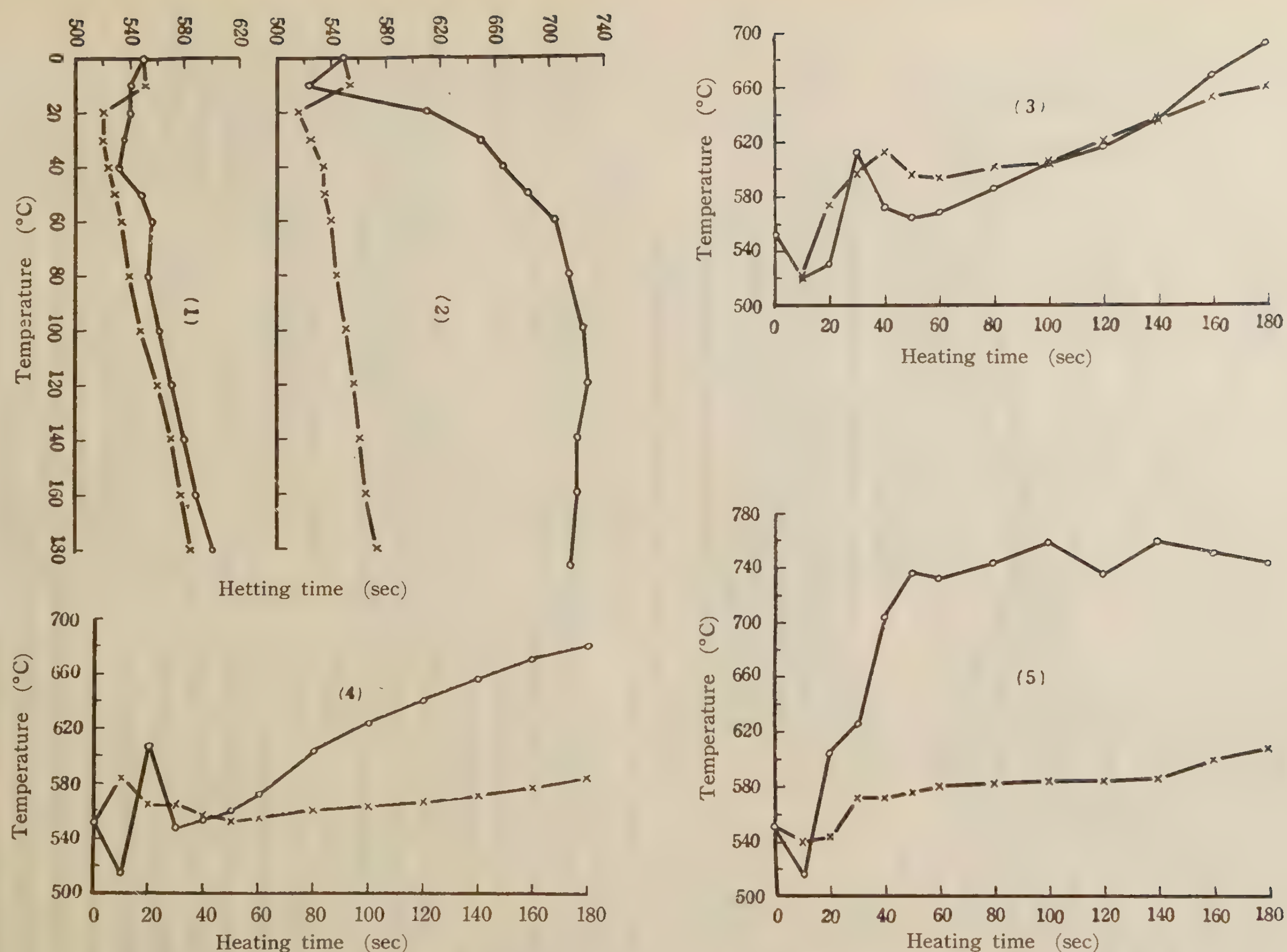


Fig. 3. Temperature during combustion of wooden plates painted with various kinds of coating material.
—×—×— test plate —○—○— control plate

考　　察

防火塗料としては塗膜あるいは被塗装物の発焔燃焼を阻止し，さらに延焼を防止することが目的であるが魚油塩素化物を混合した塗料は時として前報[1]のように発焔しやすい場合がある。しかし，この場合でも延焼しやすいかどうかについては一考を要する。すなわち発焔燃焼が起れば，それ自体の発熱により燃焼物がますます加熱され，その結果燃焼がさらに促進される。このようにして延焼を続けて行くわけであるが，発焔燃焼を起こしても，もしそれ自体発熱が微弱ならば，つまり他の熱源による加熱のみによつて発焔しているだけならば，その加熱源の消滅とともに火焔も消滅するし，また加熱を継続している場合でも，加熱されている部分以外への延焼は起らない。本実験のように，魚油塩素化物混合の塗料は大体発焔燃焼しても，燃焼中の温度があまり上昇しない点を見ると，550°C の加熱を継続しているからこそ，わずかながら昇温するのであつて，これは無焔燃焼においても見られる変化である。(Fig. 1 の (2) は大体 20 秒以後は無焔燃焼であるが 560°C 以上になつているし，同図[1]もほとんどこれと平行して昇温している)。このように魚油塩素化物を混合した塗料の燃焼中の温度が低いから，その発焔がたとえ継続していても，それによつて他の部分へ延焼して行くことは考えられない。つまり，加熱されている部分のみの燃焼で終り，延焼は防止されるものと思われ，防火塗料の目的は達せられる。ゆえに防火塗料の効力を検討するには，本実験のように，加熱中の温度変化を調べることが必要である。これらの検討の結果，魚油塩素化物は防火性塗料製造の一原料としてはなはだ有効なものと認められる。

総　　括

魚油塩素化物と相溶性のある，透明被膜をつくる市販塗料に魚油塩素化物を混合し，これをスギ板に塗装したものを 550°C で加熱して燃焼せしめ，燃焼中の温度測定の結果，塗料は魚油塩素化物の混合により十分防火性を附与されることが判明した。ゆえに魚油塩素化物は防火塗料の原料として有効であり，その防火性は市販塩素化パラフィンよりもすぐれている。

終りに，本研究に対し御指導をいただいた東京工業大学舟木教授に心から感謝します。

文　　献

1)　鈴木康策：本誌，**27**．581 (1961).
2)　————：——，**24**，45 (1958).

食品の鮮度測定法に関する研究—XVI.
微量拡散法による揮発性還元物質(VRS)の定量

富山哲夫・藤野清也

(1961年4月3日受理)

STUDIES ON THE METHOD FOR TESTING THE SPOILAGE OF FOOD—XVI.
A METHOD FOR DETERMINATION OF VRS BY MICRO-DIFFUSION TECHNIQUE

Tetuo TOMIYAMA and Seiya FUJINO*

A method which was developed in this study is as following. Place to the outer chamber of CONWAY unit a 2-cc. aliquot of sample flesh extract which can be prepared by mixing a 25-cc. aliquot of 7% trichloracetic acid solution with a mixture of 3.8 g. of ground flesh and 10 cc. of distilled water. Place to the inner chamber exactly 1 cc.-aliquot of alkaline solution of 0.05 N $KMnO_4$. Then, add 1 cc. of saturated K_2CO_3 solution to the sample extract in the outer chamber, followed by immediately sealing the unit with a cover, and leave the unit stand for two hours at room temperature. Remove the cover, and 0.5 cc. of 20% KI to the inner chamber, and further add few drops of sulfuric acid (2:5), followed by immediate addition of 0.05 N $Na_2S_2O_3$ while being stirred with a magnetic stirrer. Titrate the excess thiosulfate by 0.05 N KHI_2O_6, using a KIRK-type capillary micro-burette and a starch solution as indicator. The VRS value can be calculated by equation (1).

VRS obtained by the present method was about one-half as much as that by the distillation method[4a]. It is to be noted that VRS value of canned flesh obtained by the present method could not be employed for the estimate of the freshness of its material.

VRS の定量法についての既往の研究をみると，STROHECKER 氏[1]は pH 6.17～6.60 の魚肉をそのまま水蒸気蒸留を行ない，LANG 氏等[2]，FARBER 氏等[3]は獣魚肉および缶詰製品の圧搾汁を通気して，VRS を定量している。他方，富山等[4]は魚肉を酸性硫酸苦土で除蛋白した液をアルカリ性で水蒸気蒸留または通気してえられる VRS が鮮度をよく表わすと報告している。本報においては VRS を微量の試料で簡易に定量する目的で，富山等の定量法に CONWAY の微量拡散法[5]が用いられるかについて研究した。その結果，簡易定量法を設定することができたので，ここに報告する。

研 究 方 法

1. 研究材料

a） 実験に供したアジは市販のもので，肉のみを採つて肉挽器にかけ，砕肉を数個のポリエチレン袋に入れて，5°～6°C の冷蔵庫に保存し，臭気によつて鮮度を判定し，適時実験に供した。

b） VRS の分画法： 既報[4b]に報告したように，水蒸気蒸留液 25 cc を Amberlite IRC-50 (H型) の 2 cc をつめたカラムに通し，通過する区分を中性区分とし，N H_2SO_4 で樹脂から脱着される区分を塩基性区分とした。

---

* 九州大学水産化学教室 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka).

2. 水蒸気蒸留法による VRS の定量

既報のように，魚肉を硫酸酸性硫酸苦土で除蛋白した液に NaOH を加えて pH を 9.3 とした後，水蒸気蒸留を行ない VRS を定量した。しかし塩基性 VRS の混入を少なくする場合には，抽出液の pH を調整せずそのまま，すなわち，pH 2 附近で蒸留を行ない，VRS を定量した。

3. Conway 微量拡散法による VRS の定量

a. 試薬: 1) 2 N の NaOH を含む 0.05 N $KMnO_4$. 2) 約 0.25% 相当の Na_2CO_3 を含む約 0.06 N $Na_2S_2O_3$. 3) 0.05N KHI_2O_6. 4) 20% KI. 5) 希 H_2SO_4 (H_2SO_4 2:H_2O 5). 6) 飽和 K_2CO_3 液. 7) 0.2% 澱粉液: 局方澱粉 1 g を煮沸せる 1% サリチール酸 100 cc に加え，攪拌しつつ 5～10 分間弱く煮沸して乳白色より半透明に変じた時，水で 500 cc に希釈する。この液は長期間の保存に堪え，感度も鋭敏である。 8) 7% トリクロル酢酸水溶液（除蛋白抽出剤). 9) 試料の希釈剤（蒸留水 13.8 cc に除蛋白抽出剤 25 cc を加えたもの)。

b. 試料の調製: 細砕した供試肉 3.8 g に蒸留水 10 cc を混和し，ついで 25 cc の 7% トリクロル酢酸溶液（TCA と略記）を加えて，ミックサーで充分に抽出し，乾燥沪紙で沪過する。この沪液 2 cc を定量に供するが，もし VRS が多くて，$KMnO_4$ 消費量と VRS が比例しない場合[4a]は希釈剤（試薬 9）を用いて適当に希釈してから定量する。

c. 定量方法: 充分に清浄にし，乾燥した CONWAY のユニットの内室に，1 cc の 0.05 N アルカリ性 $KMnO_4$ を正確に入れ，外室に 2 cc の試料抽出液および約 1 cc の飽和 K_2CO_3 液を加え，直ちにユニットを密封した後，ユニットを揺つて，アルカリを混和し，室温に 2 時間放置する。放置中に $KMnO_4$ の色調が緑色に変色する時は，試料の VRS が多すぎるので，適当に希釈して定量すべきである。2 時間後に，20 % KI の 0.5 cc を内室に加えて，酸化反応を停止させる。この状態では数時間おいても滴定値は変動しないから滴定は全試料を取纒めて行なうことができる。滴定にあたつては，magnetic stirrer の上に白紙をおき，その上にユニットを載せ，内室に小型の攪拌棒をいれ，緩かに攪拌しつつ 5 滴の希 H_2SO_4（試薬 5）を加えて，沃度を遊離させ，なるべく速かに 1 cc の 0.06 N $Na_2S_2O_3$ を加えて沃度を除く。つぎに 2 滴の 0.2 % 澱粉液を加えてから，0.05N KHI_2O_6 で青紫色が生じるまで KIRK 型のミクロビウレットで滴定する。他方，供試抽出液の代りに希釈剤（試薬 9）を用いて，肉抽出液と全く同様に操作して盲検値を，一連の実験のたびに求める。もし KIRK 型のミクロビュレットがない場合には BANG のビュレット（2 cc 容量）を用い，0.005N KHI_2O_6 を使用すればよい。

d. VRS の計算: VRS の計算は次式による。

$$\text{VRS (microequivalent, } \mu\text{e/g. tissue)} = \frac{c(t-b)\times 0.05\times 1000}{m} \quad \cdots\cdots (1)$$

t=titer of 0.05N KHI_2O_6 expressed as the reading of microburette, b=titer of 0.05N KHI_2O_6 for the blank test, c=volume (cc.) corresponding to one reading of microburette, m=weight (g.) of the sample flesh to be contained in a 2 cc.-aliquot of the sample flesh extract.

研 究 結 果

1. TMA および NH_3 の拡散におよぼす pH の影響

微量拡散法の拡散速度におよぼす主要因子として，拡散時の pH，放置温度および時間が考えられる。温度と時間については定量法を簡易化するため室温（20°C）で 2 時間行ない，必要により後述の補正式を用い補正するようにした。他方，pH が異なれば，拡散する物質の種類，量および物質間相互の割合が異なるので，$KMnO_4$ の消費量が違つてくる。そこで塩基性 VRS の代表として 1/1000 ミリモルのトリメチルアミン塩酸塩の TCA 溶液を種々の pH に調整して，室温で 2 時間放置し，内室に吸収される VRS 量を定量した。その結果は Table 1 に示すように pH 11.6 附近では直接酸化値の約 80% を示すことが分つた。また $(NH_4)_2SO_4$ 中の NH_3 量を CONWAY の方法[5]にしたがい定量すると，pH 11.6 で理論値の NH_3 量

が回収された。したがつて，同じ TCA 抽出液を用いて揮発塩基および VRS の定量ができる。一方，従来の定量法[4)]で用いた硫酸々性硫酸苦土溶液を除蛋白剤としてつくつた抽出液を pH 10 以上に調整すると，多量の $Mg(OH)_2$ の沈澱を生じて $MgSO_4$ 溶液が固化し，拡散が充分行なわれない。したがつて本法においては特に TCA 溶液を除蛋白抽出液として用うるようにした。

Table 1. Change in VRS value and ammonium N when 2-cc aliquot of a TCA solution containing 0.096 mg of TMA·HCl or 90 mcg of NH_3-N was subjected to micro-diffusion at varying pH's.

pH	VRS		NH_3-N§	
	μe	%*	mcg	%†
9.5	7.1	69	64	71
10.0	7.1	69	80	89
10.5	7.4	72	84	93
11.1	7.5	73	88	98
11.7	7.7	75	92	102
12.0	8.0	78	86	96

* Expressed as per cent of VRS value which was obtained by oxidizing for two hours without diffusion (10.3 μe).
§ A twice-recrystallized sample of ammonium sulfate was employed.
† Expressed as per cent of theoretical value, 90 mcg N per 2 cc.

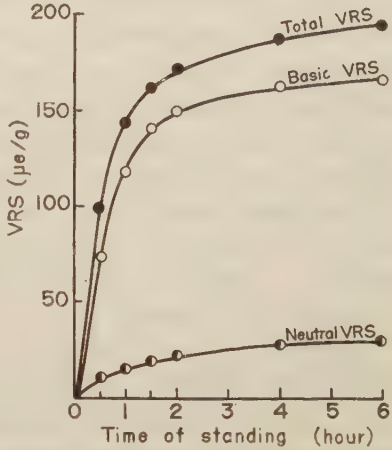


Fig. 1. Rate of diffusion of total, basic and neutral VRS at 20°C. and pH 11.6. Values for total, basic and neutral VRS's yielded by a 24-hour oxidation at 20°C. were 195, 166, and 29 μe/g., respectively.

2. VRS の吸収速度

アジ砕肉の硫酸苦土除蛋白抽出液を pH 9.3 で水蒸気蒸留してえた蒸留液を中性区分と塩基性区分に分画し，それぞれを CONWAY のユニットに入れて，pH 11.6 で室温に放置し，適当な時間に内室に吸収される VRS 量を測定した。この吸収された VRS の経時増加は Fig. 1 に示してある。これによると，全 VRS，塩基性 VRS および中性 VRS の 2 時間後の値は 24 時間後の値のそれぞれ 87%，92% および 73% をしめしている。したがつて VRS の拡散に要する時間は 2 時間でよいといえる。

3. アジ肉の鮮度低下に伴う VRS 値の変化

アジ砕肉を数個のポリエチレン袋に分ち入れ，5～6°C の冷蔵庫に保存したものを毎日一袋ずつ取り出しその VRS 含量を水蒸気蒸留および本法で定量した。その結果が Fig. 2 である。この結果をみると 3 日経過後に腐臭が感ぜられたが，その 1 日前にはすでにいずれの方法においても VRS の急激な上昇がみられた。ただし抽出液の pH を調整せず，そのまま定量に供すると，蒸留法の VRS 値は鮮度低下とともに上昇するが，本法値は低く，上昇量も少ない。したがつて本法により生肉の VRS を定量するためには，除蛋白抽出液をアルカリ性にして拡散せねばならない。除蛋白抽出液として $MgSO_4$ 抽出液をそのまま用いた場合は，TCA 抽出液をそのまま用いた場合よりも鮮度低下とともに VRS 値の上昇が顕著である。これは，除蛋白抽出液中の $MgSO_4$ 濃度が TCA 濃度より高濃度であり，そのため揮発性が高くなると思われる。本法により生肉の VRS 含量を定量する際には微酸性よりアルカリ性で拡散した方が鮮度を顕著に表わすが，これは通気法[4d)]の場合と同様に拡散法の場合も塩基性物質が微酸性で拡散しないことを意味している。よつてトリメチルアミンを用い，種々の pH に調整した後，微量拡散および水蒸気蒸留した。その結果は Fig. 3 に示したように，拡散法では pH 5～6 の時の値は pH 9.3 の時の値の 8.4% に過ぎず，pH 8 より高い

と急激に拡散した。これに対し，蒸留法では TMA を pH 5.5 で水蒸気蒸留すると，約 38% も留出した。

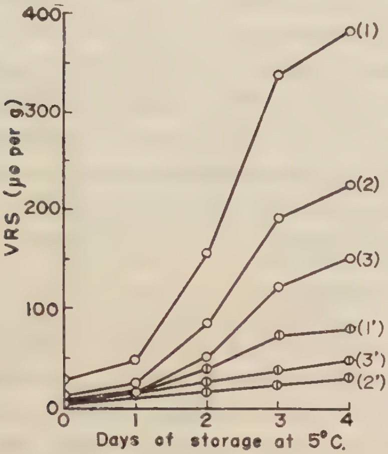


Fig. 2. Increase in VRS determined at varying pH's of horse-mackerel flesh extract with the storage of the flesh at 5°—6°C. (1): steam-distilled at pH 9.3. (2): micro-diffused at pH 11.6 from TCA solution. (3): micro-diffused at pH 9.3 from $MgSO_4$ solution. (1′): steam-distilled at pH 1.8. (2′): micro-diffused at pH 1.8 from TCA solution. (3′): micro-diffused at pH 1.8 from $MgSO_4$ solution.

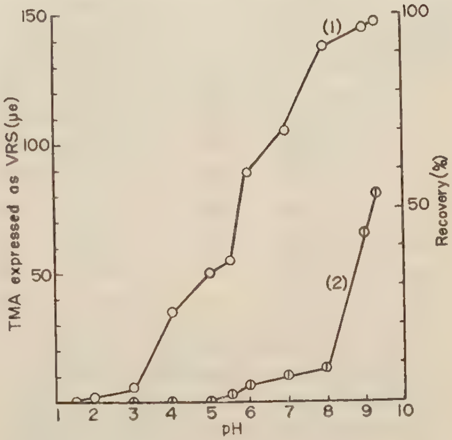


Fig. 3. Recoveries of trimethylamine by steam-distillation and micro-diffusion method at varying pH's.

4. 微量拡散法値と水蒸気蒸留法値との比較

種々の鮮度のアジ砕肉およびこれらを封管中で加圧加熱（10 ポンド，1 時間）したものの VRS 量を本法および水蒸気蒸留法で定量し，その定量値を比較した。その結果は Table 2 に示すように，アジ鮮肉では本法値は，蒸留法値の平均 59%，加圧加熱肉においては平均 60% であつた。これ等の値は富山等[4d] がえた蒸留法値に対する通気法値の割合 49 %に近い。しかもここに注目される点は，加圧加熱肉の原料が新鮮な場合でも加圧加熱肉の VRS 値は極めて高く，腐敗の進んだ生肉の VRS 値に相当する値をしめす。したがつて，密封加熱した肉の加熱前の鮮度は本法による VRS 値では判定できない。

5. TMA の室温における酸化および拡散速度

本法値が蒸留法値にくらべて，約 1/2 に近い理由としては，拡散が不完全であるか，あるいは TMA の室温酸化が 2 時間程度では不完全なことがあげられる。TMA の室温酸化速度についてはすでに報告[4d] したが，さらに長時間にわたる酸化速度を調

Table 2. A comparison between values for VRS* of horse-mackerel flesh determined by the present method and the steam distillation method[4a)].

Micro-diffusion method (1)		Steam-distillation method (2)		$\frac{(1)}{(2)} \times 100$	
raw flesh	cooked flesh§	raw flesh	cooked flesh§	raw flesh	cooked flesh§
14	128	23	217	61	59
26	137	42	225	62	61
31	214	51	365	55	59
39	260	68	430	57	61
99	323	153	530	65	61
115		200		58	
155		250		62	
189		343		55	
234		390		60	
270		460		59	
274		476		58	

* Expressed as μe/g.
§ Autoclaved for one hour at 10 psi.

Table 3. Rate of oxidation of trimethylamine with an alkaline 0.05 N $KMnO_4$ solution and rate of diffusion of trimethylamine from a 4.5% trichloracetic acid solution at pH 11.6 and 20°C.

Time of standing in hrs.	Oxidation rate*		Apparent diffusion rate§	
	VRS, μe	%	VRS, μe	%
2	4.78	83	3.30	69
4	5.04	87	3.90	77
6	5.28	92	4.16	79
8	5.38	93	4.46	83
12	5.45	95	4.56	84
18	5.61	97	4.82	86
24	5.61	97	4.95	88

* VRS was determined at intervals after a 0.1 cc-aliquot containing 0.048 mg of TMA·HCl was mixed with a 1 cc-aliquot of alkaline solution of 0.05 N $KMnO_4$ and left stand at room temperature. The rate was expressed as per cent of VRS obtained by the oxidation under a 10-minute boiling condition (5.77 μe per 2 cc).

§ A 2 cc-aliquot of 4.5% TCA solution containing 0.048 mg TMA·HCl was subjected to micro-diffusion at pH 11.6. The approximate diffusion rate was expressed as per cent of VRS value at room temperature for each time period. It is to be noted that the autual diffusion rate is greater than this calculated one.

べた。すなわち，TMA·HCl 0.048 mg を含む水溶液 0.1 cc を小型試験管にとり，1 cc の 0.05 N アルカリ性 $KMnO_4$ を加え，室温に所定の時間放置して室温酸化させた後，滴定を行なつた。その結果は Table 3 に示したように，室温放置 2 時間の値は，加熱酸化値の 83% であり，室温に 18 時間～24時間放置した時の値は，加熱酸化値とほぼ等しかつた。そこで放置時間と室温酸化値との間の関係式[6] を求めると次式が得られた。

$$\log P = \log P_z + 0.065 \log \frac{24}{Z} \quad \cdots\cdots (2)$$

ここに Z は拡散時間，P_z は Z 時間後の $KMnO_4$ 消費量，P は 24 時間後の消費量である。次に拡散速度を求めるために，TMA·HCl 0.048 mg を含む TCA溶液 2 cc を pH 11.6 で所定の時間，室温で拡散した。その結果は，拡散 2 時間および 24 時間後の値は室温酸化値のそれぞれ 69 および 88% であり 2 時間の値を式（2）を用いて，24 時間の値に補正すると加熱酸化値の 69% にしか達しない。したがつて本法では酸化および拡散とも完全に行なわれているとはいえない。

考　　察

VRS の定量法には，水蒸気蒸留法と通気法とがあるが，本報では微量拡散法による新定量法を提出した。本法を種々の試料に応用する場合，最も注意すべきことは，密封加熱の魚肉が著しく高い VRS 値を示すために，この値によつて原料肉の鮮度を判定することが不可能な点である。これについては次報で，その原因およびこの種の試料に適した方法について報告する。本法の長所は　1）加熱酸化を必要としないし，また蒸留法や通気法よりも装置が簡単であること，2）微量の試料で足り同一試料で揮発性塩基態窒素も定量できること，3）一日に約 60～90 個のユニットの定量を実施できること等である。欠点としては，1）2 時間放置では拡散も酸化も不完全なこと，　2）清浄なユニットを用い，ピペットの取扱い，滴定等の操作に細心の注意を払わないと定量値に変動があること等である。

摘　　要

1．試料肉の除蛋白抽出液を pH 11.6 としたときに発生する揮発性還元物質を微量拡散法によりアルカリ性 $KMnO_4$ 中に捕集する VRS の定量方法を案出した。

2．VRS の微量拡散がほとんど平衡となるためには室温に 2 時間以上放置する必要がある。

3．本法でえられる定量値は生肉の鮮度をよく表わす。

4．TMA の除蛋白抽出液の pH を種々に調整して本法および蒸留法にかけると，蒸留法では pH 9.3 で完全に回収できるが，本法値は蒸留法値の 56% に過ぎず，また pH 5.5 では蒸留法値は pH 9.3 の 38% であるが，本法値は 8% にしか過ぎなかつた。

5．本法および蒸留法により求めた缶詰肉の VRS 値は，原料の鮮度を示さない。この目的には抽出液を

アルカリ性にすることなく，定量に供すべきである。この方法については，次報に譲る。

文　　献

1) Strohecker, R., Vaubel, R., and Kirchberg, H.: *Z. Anal. Chem.*, **110**, 1 (1937).
2) Lang, O. W., Farber, L., Beck, C. and Yerman, E.: *Ind. Eng. Chem.*, Anal. Ed., **16**, 490 (1944).
3) Farber, L.: *Food Technol.*, **3**, 300 (1948). *Ibid.*, **6**, 319 (1952).
4) a) 富山哲夫，池浦一也，大山重信： 本誌，**26**, 33 (1960). b) 富山哲夫，池浦一也： 本誌，**26**, 128 (1960). c) 富山哲夫，池浦一也，藤野清也： 本誌，**26**, 132 (1960). d) 富山哲夫，大山重信，藤野清也： 本誌，**26**, 520 (1960).
5) Conway, E. J.: Microdiffusion analysis and volumetric error, Rev. ed., 1947, D. Van Nostrand Co., Inc., New York.
6) 富山哲夫： 陸水誌，**8**, 321 (1938).

食品の鮮度測定法に関する研究—XVII.

缶詰肉の鮮度判定用としての VRS の定量法**

富 山 哲 夫・藤 野 清 也

(1961 年 5 月 10 日受理)

STUDIES ON THE METHODS FOR TESTING THE SPOILAGE OF FOOD—XVII. DETERMINATION OF VRS AS QUALITY TEST FOR CANNED FLESH

Tetuo TOMIYAMA and Seiya FUJINO*

It has been shown in the previous study[3] that canned salmon flesh of good quality gave exceedingly high VRS value and that the autoclaving of horse-mackerel flesh resulted in a remarkable increase in VRS which was estimated on an alkalized flesh extract. The present study deals with the mode of formation of VRS in the flesh upon autoclaving, and further with a modification of TOMIYAMA et al's method which enables us to estimate the quality of canned flesh.

A high value for VRS which was obtained by the distillation, aeration and micro-diffusion procedure, was found to be made up mainly of basic substances. When the flesh of carp and horse-mackerel were autoclaved in the presence of TMAO, the basic VRS increased markedly whereas the neutral VRS remained nearly unchanged. The decomposition of TMAO was not influenced by the presence of TMA. Based on the above data is presented a method capable of determining TMA-free VRS simply by employing the deproteinized acidic extract as the sample for analysis rather than neutralized or alkalized one.

LANG 氏等[1] および FARBER 氏等[2] は獣魚肉およびその缶詰製品の VRS 含量を通気定量する方法について報告している。著者等[3] はサケ缶詰肉中の VRS を富山等の水蒸気蒸留法[4a]，通気法[4d] および微量拡散法[3] で定量したところ，著しく高い値がえられた。本研究においては，コイ，アジおよびサバの肉を加圧加熱し，加熱後に増加した VRS を研究した結果，主としてトリメチルアミン (TMA) であることを確かめた。したがつて TMA が VRS に関与しないように著者等の水蒸気蒸留および微量拡散法を変改してみたところ，この変改法値は缶詰肉の原料の鮮度をよく表わすことが分かつた。本報では加熱処理前後における肉の VRS 量の変化，VRS の性質および起源について吟味した結果，およびそれらを基礎にして決定した変改法について報告する。

研 究 方 法

1. 実験材料

アジ，サバおよび生きたコイは市場より求めたものである。いずれも肉部のみを採り，細砕肉として実験に供した。供試したベニザケ缶詰は工船上でクロルテトラサイクリン処理魚を原料としたものおよび処理してない魚を原料としたものの 2 種類である。いずれも肉部と液汁に分けて定量に供した。用いた TMA 塩

* 九州大学水産化学教室 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka).

** 本研究の概要は昭和 35 年 11 月に日本水産学会九州支部大会 (福岡市) において発表した。

酸塩およびトリメチルアミンオキサイド (TMAO) はそれぞれ東京化成工業および石津製薬から求めた市販品である。

2. 加熱肉の VRS の定量法

a) 水蒸気蒸留による定量法: 供試する肉抽出液（硫酸苦土による除蛋白液）を中和あるいはアルカリ性としないで，そのまま蒸留にかける。その他の操作は既報[4a)]のものと全く同様である。

b) 微量拡散による定量法: この場合には硫酸苦土による肉抽出液[4a)] 2 cc を Conway unit の外室に採りアルカリを加えない。したがつて pH 2 附近で VRS を内室に拡散させるようにする。他の点は前報[8)]と全く同様で，計算の場合には抽出液 2 cc 中の供試肉の重量 (0.2 g) で除して，肉 1 g 当たりの VRS を microequivalent で表わす。すなわち

$$\mathrm{VRS}=\frac{c(t-b)\times 0.05\times 1{,}000}{0.2}$$

where, t = titer of 0.05 N KHI_2O_6 expressed as the reading of microburette, b = titer of 0.05 N KHI_2O_6 for the blank test, c = volume (cc.) corresponding to one reading of microburette.

研 究 結 果

1. 鮭缶詰肉および液汁の VRS 値

ベニザケ缶詰の肉および液汁の抽出液の pH を 9.3 としてから，VRS を蒸留法，通気法および微量拡散法で定量した結果は Table 1 に示してある。この缶詰内容は官能的にみて上級品であるにもかかわらず，肉質，液汁ともに pH 9.3 における VRS 値は著しく高い値を示した。しかし同じ抽出液を pH 5.5 に調整して定量すると，低い値がえられた。他方，pH 9.3 で蒸留し，蒸留液を Amberlite IRC-50 (H 型) を用いて塩基性区分と中性区分とに分画したところ，大部分は塩基性 VRS で，中性のものは極めて僅かしか存在しなかつた。

Table 1. VRS, μe per g, of canned salmon flesh.

pH of extract	sample flesh: CTC-treat.	sample flesh: part of canned salmon	steam-distil. total	steam-distil. N[1)]	steam-distil. B[2)]	Aeration	micro-diffusion
9.3	without	flesh	113	5	88	44	53
		juice	117	1	98	61	45
	with*	flesh	120	2	103	62	52
		juice	100	—	—	64	63
5.5	with*	flesh	25	6	22	3	0
		juice	—	—	—	3	0

* Prior to the canning the fish were subjected to a chlortetracycline (CTC)-dip treatment. 1) N: neutral VRS. 2) B: basic VRS.

2. 加圧加熱による VRS の生成

pH 9.3 で定量される VRS は加圧加熱中に新しく生産されると考えられるので，種々の鮮度のアジ肉をガラス封管中で，10 ポンド，60 分間加圧加熱し，それらの肉抽出液の pH を 9.3 および 5.0～5.5 とした後，蒸留法，通気法および微量拡散法で VRS を定量した。その結果は Table 2 に示してある。pH 5.0～5.5 で定量した場合には，通気法および微量拡散法の値はいずれも低く，加熱後の増加量も少ないのに対して，蒸留法による VRS の増加量はこれ等の数倍であつた。それに反して pH 9.3 の場合の値は，いずれの方法で定量しても pH 5.0～5.5 の値より遙かに大きいだけでなく，加熱後の増加量は鮮度のよいものの方が著しく大きく，鮮度低下と共に加熱時の増加量は小さくなつた。これは次項で明らかなように，新鮮な海産魚肉中には加熱時の VRS 増加の原因をなす TMAO が多量含まれ，鮮度低下と共に消失するからであろう。他方，いずれの定量条件においても，1つの定量法で鮮度低下を追跡すれば，常に鮮度低下と共に VRS は急上昇する。しかし定量する時の pH によつて VRS が著しく変動するので，加熱肉の VRS 値によつて加熱前の生肉の鮮度の良否を表わすためには，VRS 定量時の pH を一定に規正せねばならない。

Table 2. The change during storage of horse-mackerel flesh in VRS value of the flesh after autoclaved.*

Days of storage at 5°C.	pH of extract	Before autoclaving			After autoclaving		
		distillation	aeration	diffusion	distillation	aeration	diffusion
0	5.0	7	3	5	35	17	11
	9.3	27	13	17	173	79	132
1	5.0	7	3	5	27	20	20
	9.3	41	19	27	196	90	131
2	5.0	99	26	25	97	18	32
	9.3	341	198	195	330	159	—

* 1-hour autoclave at 10 psi.

Table 3. The change in neutral and basic VRS (μe/g) of autoclaved* horse-mackerel flesh with its freshness.

Days of storage at 5°C.	pH of extract	VRS, μe per g					
		distillation		aeration		diffusion	
		neutral	basic	neutral	basic	neutral	basic
0	9.3	15	157	7	61	16	76
1	9.3	13	184	5	86	9	127
2	5.5	32	49	3	5	7	17
	9.3	34	277	11	157	19	—

* 1-hour autoclaved at 10 psi.

つぎに加圧加熱によつて増加した VRS の成分を中性および塩基性区分に Amberlite IRC-50 (H型) で分画してみると，Table 3 に示すように鮮度の良否を問わず中性区分は含量少なく，塩基性区分は甚だ多いことが分かつた。塩基性区分の VRS を pH 5.0～5.5 の下に蒸留法および通気法で定量すると，pH 9.3 で定量した塩基性 VRS のそれぞれ 1/5 および 1/30 に過ぎなかつた。したがつて VRS によつて加圧加熱肉の生原料の鮮度を表わすためには，VRS を pH 9.3 よりも pH 5 あるいはそれ以下の微酸性で定量すべきである。この点については pH 2 および pH 9.3 の下に種々の鮮度をもつアジ肉の VRS を定量した結果 (Table 4) をみると明瞭である。蒸留法，微量拡散法いずれによつても比較的鮮度のよい試料では，pH 9.3 の時の VRS は試料を加熱することによつて増加した。しかし pH 2 の時の VRS は試料の鮮度の良否にかかわらず，試料を加熱した前後で増加することはなかつた。蒸留法値が pH 2 の場合に微量拡散法よりも高い値を示す理由は，VRS の駆逐が充分に行なわれること，VRS の酸化が高温のために完全に近いこと，

Table 4. Relation between freshness and VRS value (μe/g) determined at pH 2 and pH 9.3 of autoclaved horse-mackerel flesh.

Method of determination	Days of storage at 5～6°	VRS at pH 2		VRS at pH 9.3	
		before heating	after heating	before heating	after heating
Steam-distillation	0[a]	8	8	34	150
	1[b]	12	11	56	217
	2[c]	31	36	200	365
	3[d]	46	48	460	470
	4[e]	56	51	476	480
Micro-diffusion	0[a]	3	2	18	90
	1[b]	6	6	31	128
	2[c]	7	8	115	217
	3[d]	10	10	270	274
	4[e]	11	11	274	280

a, b: fresh odour. c: slightly fishy odour. d: slightly rancid odour. d: putrid odour.

また試料が酸性のために酸性物質も混入することなどが考えられる。

3. 加圧加熱によつて生成する VRS の起源

TMAO を含有する肉を加圧加熱すると，TMA を生ずることはすでに 1926 年に知られているので[5]，加圧加熱によつて増加する VRS の起源の一つとして TMAO が挙げられる。そこで鮮肉の VRS の増加と TMAO との関係を知るために TMAO を含む肉としてサバ肉を，これを含まない肉としてコイ肉を用い，つぎのような実験を行なつた。すなわちサバおよびコイの砕肉 25 g あるいは蒸留水 25 cc に対し TMAO の 5 ミリモル水溶液 1 cc (375 mg TMAO 含有) を加え，封管中につめ，直ちに 10 ポンドで 60 分間加熱した。同時に TMAO 溶液 1 cc の代りに蒸留水 1 cc をそれぞれの肉に加えて同様に加熱処理したものを対照とした。VRS の定量は pH 9.3 で水蒸気蒸留法[4a] によつた。その結果は Table 5 に示してある。

Table 5. Increase in VRS** on 1-hour autoclaving at 10 psi.

Sample	Before autoclaving			After autoclaving		
	neutral	basic	total	neutral	basic	total
TMAO*	2	1	2	3	1	3
Carp flesh	27	4	28	26	5	32
〃 +TMAO*	24	2	28	23	143	174
Mackerel flesh	25	71	91	35	79	108
〃 +TMAO*	35	79	113	51	276	346

** Determined by steam-distillation at pH 9.3. * A 375-mg aliquot of TMAO was added to 25g of flesh or 2.5cc of water.

Table 6. The change in VRS from TMAO autoclaved with TMA and alanine.

Sample	VRS, μe per g	
	Before autoclaving	After autoclaving
TMA†	2.52	2.47
TMAO§	0.05	0.05
TMA+TMAO	2.57	2.57
TMA+TMAO+alanine††	2.53	2.53

* Expressed as cc of 0.05 N KHI_2O_6. † 1/100 millimol. of TMA-HCl (0.955 mg) was used.
§ 1/100 millimol. of TMAO (0.75 mg) was used.
†† 1/10 millimol. of alanine (8.90 mg) was used.

コイ肉だけを熱処理すると，VRS の増加はみられなかつた。これはこの肉に TMAO がないためと考えられる。他方，サバ肉だけの場合も僅かに増加したに過ぎなかつた。恐らくは供試したサバ肉の鮮度が多少低下していたことと，このサバ肉自身の TMAO 含量が恐らく低かつたためではないかと推察される。また TMAO の水溶液を加圧加熱しても VRS の生成は起らなかつた。しかしコイ肉およびサケ肉に TMAO を添加して加圧加熱すると著しい VRS の増加がみられ，その増加は中性区分ではなく主として塩基性区分であつた。つぎにコイ肉およびサバ肉に等量の TMAO を添加後，密封加熱した時に増加する VRS はそれぞれ約 140 μe/g および 240μe/g であつて，この差は恐らくサバ肉の方がコイ肉よりも TMAO を還元する物質が多いためと思われる。

なお TMAO を TMA に還元する機構としては，従来確かめられたように，鮮肉中の SH 基および加熱時に生成する SH 基のような水素供与体の他に，TMAO と共存する TMA が還元を触媒する可能性も考えられる。また TMAO を熱分解した場合，ヂメチルアミン (DMA) およびフォルムアルデヒド (FAL) を生じ，DMA のイミノ基と FAL のカルボニル基が結合すると，見掛け上 VRS の増加が起こらない可能性もある。因つて TMAO と TMA の混合物に FAL を捕捉するために alanine を添加して加圧加熱した場合に VRS が増加するか否かを検討した。その結果，Table 6 に示すように，TMAO は TMA が存在しても，また alanine が共存しても，加圧加熱により VRS を増加させなかつた。したがつて TMA は TMAO の還元に触媒的に作用しないことが分かつた。

考察

生肉を加熱すると肉中の TMAO が生肉中の SH 基および加熱時に新生する SH 基によつて TMA に還元されることについては，すでに ACKERMANN 氏等[5] により 1926 年に報告されている。佐々木氏等[6] も TMAO をマグロ肉および豚肉に加えて加熱すると TMA が生ずることを確かめ，添加した TMAO の 10% が TMA に還元されたと報告している。太田氏[7] は TMAO が加熱によりヂメチルアミン (DMA) とフォルムアルデヒド (FAL) に分解し，この反応は魚肉エキス成分あるいは特定のアミノ酸の存在によつて促進されることを明らかにし，また生じた FAL は共存する蛋白質あるいはアミノ酸と反応消失するものと推定している。また HUGHES 氏[8] はニシンの肉を密封ガラス管中で加圧加熱すると，TMAO の減少と共に TMA が相対的に増加すること，および加圧加熱により TMA 以外に DMA や NH_3 が増加するのを認めている。

著者等は海産魚肉を密封加圧加熱すると，塩基性 VRS が増加するが，コイの肉ではこの現象がみられないこと，また魚肉に TMAO を特別に添加して加圧加熱すると，塩基性 VRS が著しく増加することを確認した。これらの事実から海産魚肉の密封加熱により増加する VRS の主原因物質は TMAO であるといえる。また増加する VRS の大部分は，従来の文献からみて TMA であるのは明らかである。因つて FARBER[9] も確かめているように，加熱肉の場合には TMA は原料肉の鮮度判定には用いられない。したがつて VRS によつて密封加熱肉の加熱前の鮮度を表わすには，加熱によつて生じた TMA が VRS 値に入らないように定量法を定めねばならない。そのためには前報に示したように，微量拡散法では pH 5 以下，水蒸気蒸留法では本研究に示したように pH 2 附近とすべきである。通気法においては既報[4d] に示したように pH 7 以下であれば，VRS に対する TMA の関与は少ない。このような理由から，加熱処理肉の原料の良否を判定するための VRS の定量法をいずれの方法においても酸性硫酸苦土による除蛋白液の pH を調整せずにそのまま定量するように変改した。FARBER 氏等[2] は缶詰肉原料の鮮度を判定するのに，圧搾汁をそのまま pH を調製せずに VRS を通気定量しているが，圧搾汁の pH によつて多少 TMA が混入する可能性はあると思われる。

なお本研究においては 1g のサバ肉およびコイ肉はそれぞれ 0.02 ミリモルおよび 0.012 ミリモルの TMAOを還元した。佐々木氏等[6] の研究では 1g の豚肉は 0.016 ミリモルの TMAO を還元した計算となり，本実験の値に近い。

総括

1. 新鮮なサケ肉缶詰の VRS をアルカリ性において蒸留法，通気法および微量拡散法により定量すると，いずれも著しく高い VRS 値がえられた。

2. 新鮮なアジ肉を密封加圧加熱すると，アルカリ性で定量した VRS 値は甚しく高く，その成分は主として塩基性 VRS であつた。

3. TMAO をコイおよびサバ肉に添加してから密封加圧加熱すると，無添加のものに比べて塩基性 VRS は著しく大きく，TMA が大部分を占めていると信ぜられる。なお共存する TMA はこの還元に対し触媒的には作用しなかつた。

4. 以上の結果に基づいて缶詰肉原料の鮮度を示す VRS 値の定量方法を決定した。

文献

1) LANG, O. W., FARBER, L., BECK, C., and YERMAN, E.: *Ind. Eng. Chem.*, Anal. Ed., **16**, 490 (1944).
2) FARBER, L.: *Food Technol.*, **3**, 300 (1948); *ibid.*, **6**, 319 (1952).
3) 富山哲夫，藤野清也：本誌，**27**，678 (1961).
4) a) 富山哲夫，池浦一也，大山重信：本誌，**26**, 33 (1960). b) 富山哲夫，池浦一也：本誌，**26**, 128 (1960). c) 富山哲夫，池浦一也，藤野清也：本誌，**26**，132 (1960). d) 富山哲夫，大山重信，藤野清也：本誌，**26**，520 (1960).
5) ACKERMANN, POLLER und LINNEWEK: *Ber. deutsch. chem. Ges.*, **59**, 2751 (1926).
6) 佐々木林治郎，藤巻正生：農化，**27**，420 (1953).
7) 太田冬雄：本誌，**24**，334 (1958).
8) HUGHES, R. B.: *J. Sci. Food Agric.*, **8**, 431 (1959).
9) FARBER, L., and FERRO, M.: *Food Techdol.*, **10**, 303 (1956).

NINHYDRIN REACTIVE SUBSTANCES IN MARINE ALGAE—I. ON THE ABSORBABLE FRACTION ON STRONG CATIONIC ION-EXCHANGE RESIN

Mitsuo KURIYAMA*

(Received April 3, 1961)

The author isolated citrulline from two species of red algae *Chondrus ocellatus* and *Rhodoglossum purcherum*[1] and a new amino acid, 1,4-thiazane-3-carboxylic acid S-oxide, from *Chondria crassicaulis*.[2] DAIGO also confirmed the existence of citrulline in a species of red algae *Chondria armata*.[3] Taurine and its methyl derivatives are isolated from some species of red algae.[4] Pharmacologically active ones (anthelmintic principles) kainic[5] and domoic acids[6] are isolated from *Digenea simplex* and *C. armata*, respectively. Though some reports[7,8,9] on quantitative and qualitative investigations of free amino acid compositions in red algae are also at hand, these analyses have often failed to deal with all the nitrogenous components in the algae. In addition, they are representing only the pattern of one or two species of red algae and no generallizations are yet available. The present author has attempted to investigate all the ninhydrin reactive substances in the ethanol extract of the red algae by the use of ion-exchange resin. In this paper are described investigations on the distribution and some properties of amino acid in some red algae which are absorbable on strong cationic ion-exchange resin.

Experimental

METHOD....For the investigation, displacement chromatography of PARTRIDGE and BRIMLEY was employed, by the use of strong cationic ion-exchange resin Dowex 50, instead of Zeo karb 215. Since algal extracts contain inorganic salts in high concentration, it was necessary to resolve them on a large column before fractionation of amino acids. These detailed procedures were reported previously.[1,2]

Solvent systems for the paper chromatography were n-butanol acetic acid water (4:2:1 and 4:1:5), phenol saturated with water and collidine lutidine saturated with water. For the detection of amino acids, 0.2 per cent ninhydrin solution in butanol was used, beside which the following specific test reagents were employed, A) isatine solution for proline, B) EHRLICH's reagent[11] for citrulline, C) *p*-nitrobenzoylchloride and pyridine[12] for glycine and 1,4-thiazane-3-carboxylic acid S-oxide.

MATERIALS....Red algae used for the investigation were all collected at Hakodate.

Chondrus ocellatus....Three kg. of dried sample collected in Jan. 1959 and 2 kg. of dried sample collected in Apr. 1959 were used.

* Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, Japan (栗山光央, 北海道大学水産学部)

Neodilsea yendoana, *Rhodoglossum pulcherum* and *Iridaea cornucopiae*....One kg. of each dried sample, collected in Oct. 1958, Jan. 1958 and May 1959, respectively, was used.

Chondria crassicaulis....Fifteen kg. of fresh material collected in Nov. 1958 were used.

Results and Discussion

Each sample was extracted with 70 per cent ethanol and fractionated on the column of Dowex 50–H^+ by the usual procedures. Amino acid patterns obtained from algal extracts are shown in Figs. 1 to 5. As the amino acid pattern obtained from *R. pulcherum* was quite similar to that of *C. ocellatus* collected in Jan., it was omitted. As may be seen in the figures, aspartic and glutamic acids, serine, threonine, asparagine, citrulline, glycine, alanine, valine, leucines, phenylalanine and ornithine were

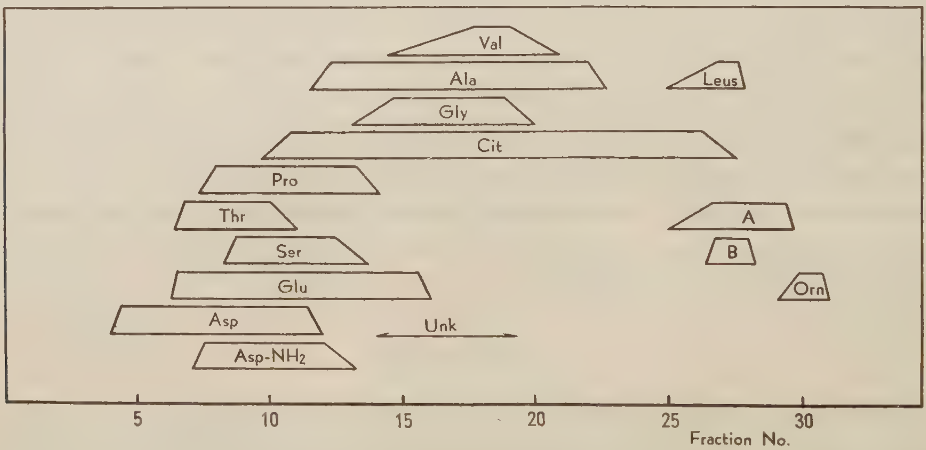


Fig. 1. Primary fractionation of the amino acids present in an extract of *Neodelsea yendoana.*

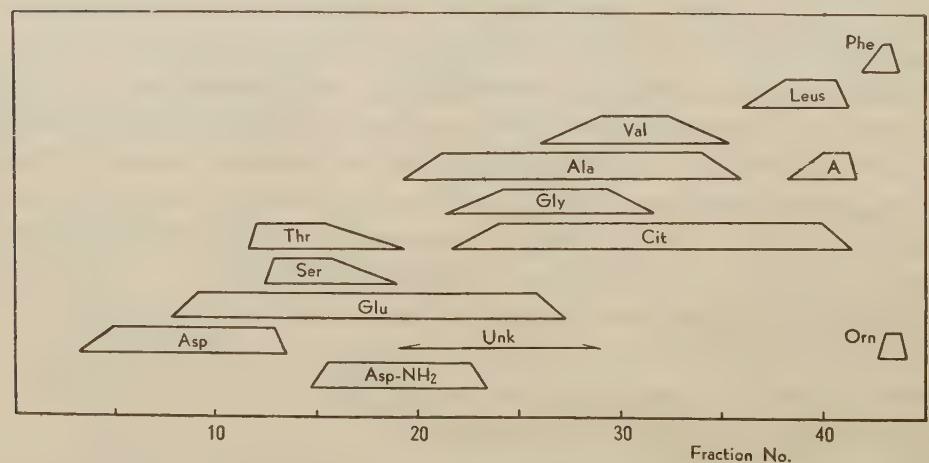


Fig. 2. Primary fractionation of the free amino acids in Iridaea cornucopiae.

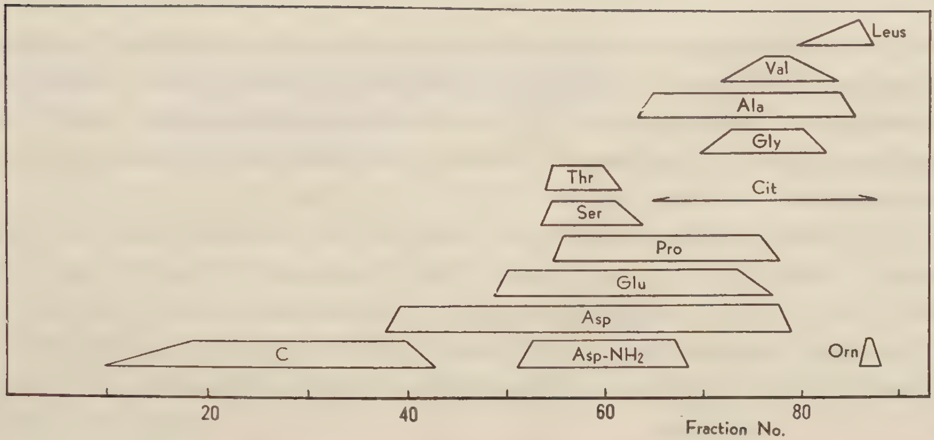


Fig. 3. Primary fractionation of the amino acids present in an extract of *Chondria crassicaulis*.

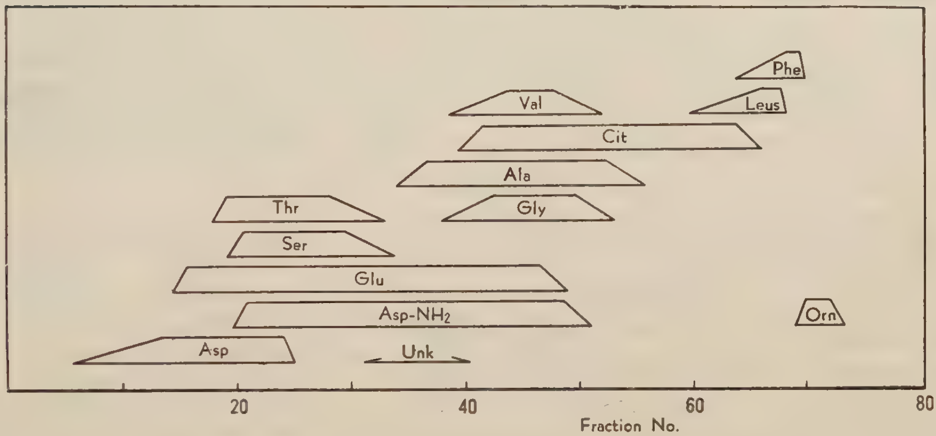


Fig. 4. Primary fractionation of the free amino acids present in an extract of *Chondrus ocellatus* collected in Jan. 1958.

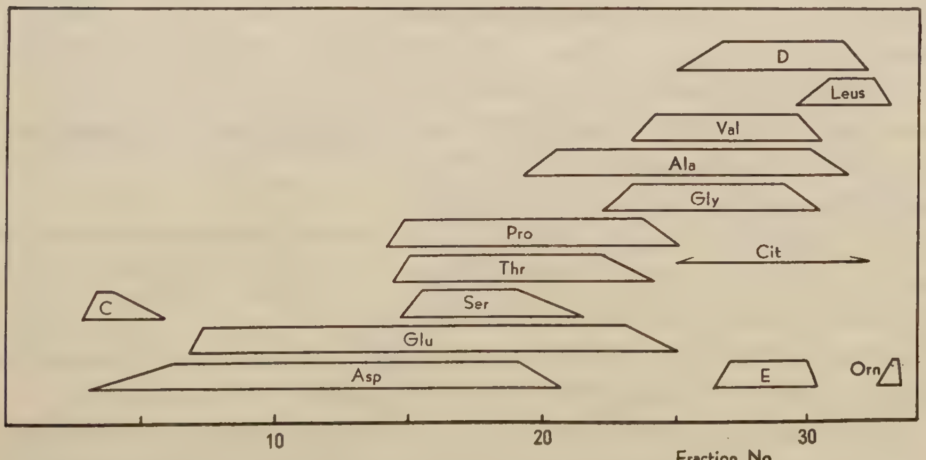


Fig. 5. Primary fractionation of the amino acids present in an extract of *Chondrus ocellatus* collected in Apr. 1959.

commonly distributed in all red algae, whereas neither cystine, histidine, tryptophane nor methionine was detected. As for the existence of glutamine and arginine, that still remains in question because of the unstability of the former to the strong cationic ion-exchange resin[13] and because of dilute ammonia solution as the displacement agent to the other.

The fact that citrulline exist in red algae had not been recognized until it was detected in *Porphyra tenera*[7] and isolated from *C. armata*,[3] *C. ocellatus* and *R. pulcherum.*[1] But so far as has been examined, it was encountered in all red algae used for the present investigation; it might be considered that citrulline is widely distributed in red algae and that that is a characteristic quality to distinguish the red from other brown or green algae.

In the extract of *N. yendoana*, there were detected unknown A and B and in *I. cornucopiae*, unknown A, which were not encountered in other red algae (A, B in Figs. 1 and 2). Though these substances could not be isolated because of their small amounts, unknown A and B were found to agree well with β-alanine and γ-amino-butyric acid on paper chromatograms. These substances have not been mentioned heretofore as having been found in the marine algae. Further investigations would benecessary to confirm the presence of these amino acids.

In the case of *C. crassicaulis*, the amino acid pattern was different from that of the others. The amounts of acidic amino acids were quite high. Aspartic acid crystallized immediately after the fractionation from fraction 45 to 55 (yield 7.5 g., Estimated N, 10.82%, Calculated N, 10.52%, $(\alpha)^{18}_{D}=+25.41$ (6N–HCl, C=2)). On the other hand, an amino acid which gave a blue colour with ninhydrin on paper chromatograms was detected before the common amino acids (C in Fig. 3). As already described,[2] this amino acid has been confirmed to be 1,4-thiazane-3-carboxylic acid S-oxide. This new amino acid is now considered to belong to the L-form according to the law of Lutz (Fig. 6). From *C. armata*, which belongs to the same family (*Rhodomelaceae*), Daigo isolated domoic acid and D-aspartic acid. But aspartic acid isolated from *C. crassicaulis* clearly belongs to the L-form as mentioned above and not a trace of domoic acid was detected in this alga.

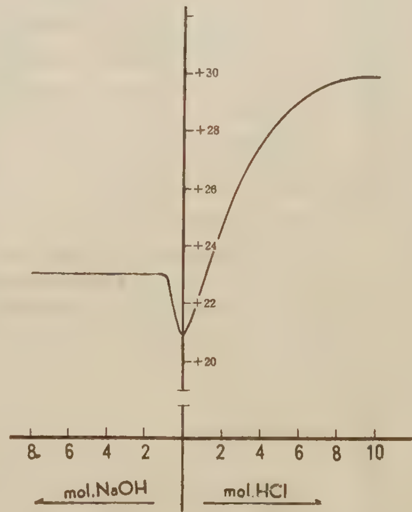


Fig. 6. Specifics optical rotation curve of 1, 4-thiazane-3-carboxylic acid S-oxide. (at 18°C.)

It is very interesting that in the case of *C. ocellatus*, the amino acid patterns obtained from the samples collected in Jan. and in Apr. were very different (Figs. 4 and 5). Although a large amount of citrulline and asparagine were encountered in

the former, only a trace was encountered in the other. Reverse relation was observed with proline. Furthermore, 1,4-thiazane-3-carboxylic acid S-oxide and unknown substances were detected in the sample collected in Apr. (C. D and E, respectively, in Fig. 5). It may be regarded that these seasonal variations or differences in amino acid patterns of this alga clearly show the differences in metabolic process during the life cycle. Much attention must be paid to investigation on the distribution of free amino acids because of their variations in amount.

As to the newly detected substances, such as β-alanine, γ-aminobutyric acid and 1,4-thiazane-3-carboxylic acid S-oxide, though they were detected in only one or two species in this investigation, wide distribution of these substances may be revealed by further investigation.

Summary

By the use of ion-exchange resin Dowex 50-H^+, the respective amino acid compositions in some species of red algae were revealed. The distribution and some properties of the acids were discussed.

References

1. Kuriyama, M., Takagi M. and Murata, K.: *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, **10**, 277 (1959).
2. Kuriyama, M., Takagi, M. and Murata, K.: *Ibid.*, **11**, 58 (1960).
3. Daigo, K.: *J. Pharm. Soc. Japan*, **79**, 365 (1959).
4. Lindberg, B.: *Acta chem. Scand.*, **9**, 1323 (1955).
5. Takemoto, T.: *J. Pharm. Soc. Japan*, **73**, 1026, 1028, (1953). *Ibid.*, **74**, 560 (1054). *Ibid.*, **75**, 766, 937, 1252, 1255 (1955).
6. Daigo, K.: *Ibid.*, **79**, 350, (1959).
7. Takagi, M. and Kuriyama, M.: *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **7**, 130 (1956), *Ibid.*, **10**, 72 (1959).
8. Tsuchiya, Y. and Suzuki, Y.: *This journal*, **20**, 1092 (1955).
9. Coulson, C. B.: *Chem. and Ind.*, 971 (1953).
10. Partridge, S. M. and Brimley, R. C.: *Biochem. J.*, **51**, 628 (1952).
11. Fowden, L.: *Nature*, **167**, 1030 (1951).
12. Plattner, Pl. A. and Nager, U.: *Helv. Chim. Acta*, **31**, 2203 (1948).
13. Hulme, A. C.: *Food Science Abstracs.* **28**, 345 (1956).

NINHYDRIN REACTIVE SUBSTANCES IN MARINE ALGAE—II. ON THE NON-ABSORBABLE FRACTION ON STRONG CATIONIC-ION-EXCHANGE RESIN

Mitsuo KURIYAMA*

(Received Apr. 3, 1961)

As already described,[3] the author made investigations on the composition of amino acid in the ethanol extract of some species of red algae that was absorbable on strong cationic ion-exchange resin Dowex 50–H^+. Investigations on the non-absorbable fraction of this resin revealed the existence of taurine and unknown two ninhydrin reactive substances. They were given names "unknown A and B" for convenience. By the use of anionic ion-exchange resin Amberlite IR–45 and Dowex 2, they were successfully isolated from red algae *Chondrus ocellatus*, *Iridaea cornucopiae* and *Neodilsea yendoana* (Fig. 1). As summarized in Table 1, taurine and unknown A were most widely distributed in red algae whereas unknown B was detected only in the *Gigartnaceae*. In the case of *Chondria crassicaulis*, though it belongs to *Rhodophyta*, taurine and newly isolated substances were not observed. In the brown or green algae so far examined, these substances seem to be absent. LINDBERG[1] isolated taurine, N-methyltaurine and N-dimethyltaurine from some species of red algae, but these taurine derivatives that were synthetically obtained by his method, were quite different from the newly isolated unknown substances in respect to their melting points as wall as their *Rf* values on paper chromatograms (Table 2). And these taurine derivatives could not be observed in the course of the experiments (Table 1).

For the detection of these derivatives on paper chromatograms, LINDBERG used the method of spraying B.T.B. indicator solution (0.04 per cent in water pH 7.0) besides using ninhydrin, because of the low sensibility of these derivatives to ninhydrin. But this method was not so sensitive and often failed to reveal the presence of these derivatives. To eliminate these inconvenience, the author dipped the paper chromatograms in B.T.B. ethanol solution with addition of 0.05 ml. of N–NaOH. By this method, these derivatives were detected clearly as yellow spots on darkish blue background except n-butanol acetic acid solvent systems. Tow unknown substances isolated here were also not very sensitive to ninhydrin, so that this method was equally effective for the identification on paper chromatograms. Furthermore, unknown A gave a positive result with *p*-nitrobenzoylchloride and pyridine.[2]

Method and Materials

Method for the Detection of Amino Acids....Solvent systems for the paper chromatography were the same as previously reported.[3] For the detection, use was made

* Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, Japan (栗山光央, 北海道大学水産学部)

Table 1. The distribution of taurine and newly isolated amino acids in various algae.

	Taurine	"Unknown A"	"Unknown B"	N-CH_3-taurine	N-$(CH_3)_2$-taurine
Red algae					
Chondrus ocellatus (Apr., 1959)	+++	+	+	−	−
Chondrus ocellatus (Jan., 1958)	++	+	+	−	−
Rhodoglossum pulcherum (Jan. 18, 1958)	+++	+	+	−	−
Iridaea cornucopiae (May, 1959)	+++	+	+	−	−
Neodilsea yendoana (Oct., 1960)	+++	+	−	−	−
Chondria crassicaulis (Nov., 10, 1958)	−	−	−	−	−
Porphyra tenera	++	+	−	−	−
Gelidium amansii (Aug. 28, 1959)	+	+	−	−	−
Brown algae					
Laminaria japonica (Aug. 3, 1957)	−	−	−	−	−
Alaria praelonga (Aug. 3, 1957)	−	−	−	−	−
Undaria pinnatifida (Aug. 3, 1957)	−	−	−	−	−
Pelvetia wrightii (May, 12, 1957)	−	−	−	−	−
Green algae					
Ulva pertusa (Sept. 23, 1956)	−	−	−	−	−
Chaetomorphya moniligera (Aug. 30, 1958)	−	−	−	−	−

Table 2. *Rf* values and melting points of amino acids that were obtained from the non-absorbable fraction on strong cationic ion-exchange resin in the ethanol extract of red algae and that were synthetically obtained by the method of B. LINDBERG[1].

	Butanol acetic acid water		Phenol water	Collidine lutidine	Melting point
	(4:2:1)	(4:1:5)			
Taurine	0.17	0.15	0.40	0.56	300–310°
Unknown A[1]	0.25	0.16	0.43	0.62	258°
Unknown B	0.17	0.15	0.60	0.62	161°
N-$(CH_3)_2$-taurine[2,3]	—	—	0.83	—	290–3000°
N-CH_3-taurine[2]	0.17	—	0.76	—	225°

1) Positive result obtained with *p*-nitrobenzoylchloride and pyridine[2].
2) Synthetically obtained by the method of B. LINDBERG[1].
3) Negative with ninhydrin, detected only by means of the use of B.T.B. indicator reagent.

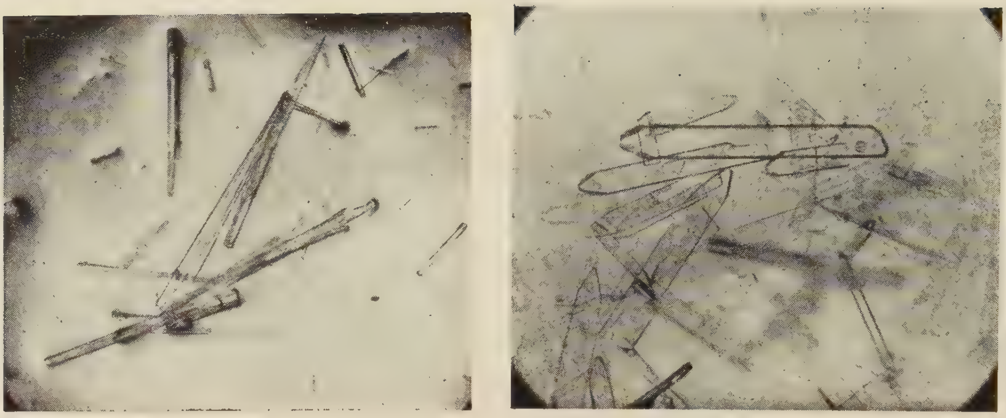


Fig. 1. Crystals of "unknown A and B" obtained from *Chondrus ocellatus*.

of (A) 0.2 per cent ninhydrin in butanol, (B) *p*-nitrobenzoylchloride and pyridine,[2] (C) 0.1 per cent bromthymolblue solution in 92 per cent ethanol with addition of 0.05 ml. of N–NaOH.

Method for the Isolation....The method for the isolation was practically the same as that reported in the previous paper except that anionic ion-exchange resin Amberlite IR–45 and Dowex 2–OH^- were used.

Materials....For the isolation, *Chondrus ocellatus*, *Iridaea cornucopiae* and *Neodilsea nendoana*, were employed. They had been collected at Hakodate Mar. 1958, May 1959 and Oct. 1960, respectively. Various algae used for the detection of these

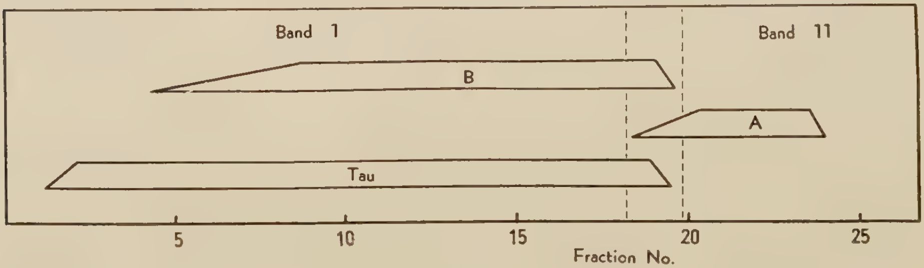


Fig. 2. Primary fractionation of the amino acids which are not absorbable on strong cationic ion-exchange resin.

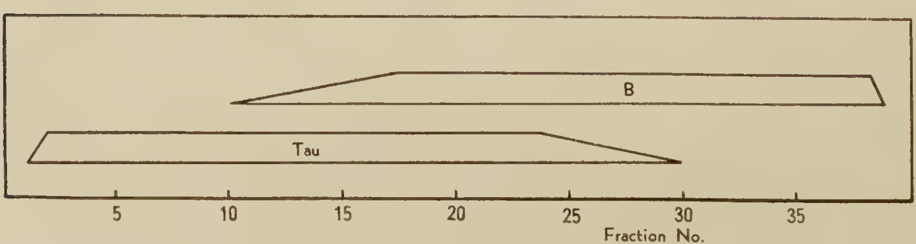


Fig. 3. Secondary fractionation of the acids of band 1 in Fig. 2.

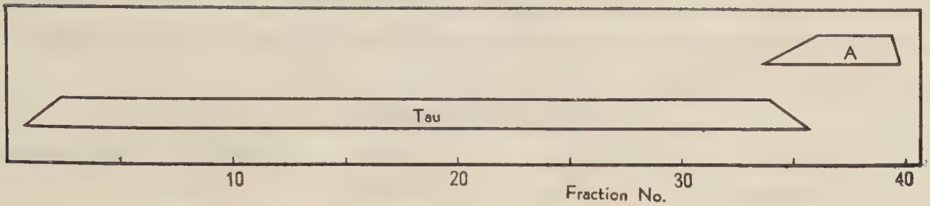


Fig. 4. Primary fractionation of the amino acid in the extract of *Neodilsea yendoana* which are not absorbable on strong cationic ion-exchange resin.

substances were collected mainly in the vicinity of Hakodate, only *Porpyra tenera* was obtained from the market. Date of collections are listed in Table 1.

Experimental

Distribution in Various Algae....Each dried sample (10 g.) was extracted `with hot 70 per cent ethanol under a reflux. After concentration to a small bulk, extracts were applied to a column of Dowex 50 H^+ (100 ml.). The effluent was then applied to a column of Dowex 2–OH^- (100 ml.) and displaced with 0.2 N–HCl. Amino acid fraction was concentrated to a small bulk, developed on paper chromatography. The results are summarized in Table 1.

Isolation from Chondrus ocellatus....Dried samples (2 kg.) was extracted with 70 per cent ethanol for 3 weeks. After the residue has been filtered off, the extract was concentrated *in vacuo*, decolourized with ether and then with charcoal previously treated with acetic acid.[4] The colourless extract was passed through a large column of Dowex 50–H^+, to remove inorganic salts and common amino acids. The column was washed with water until pH of the effluent became neutral to thymol blue. The effluent was then applied to the column system of Amberlite IR–45 (1900 ml) connected below with a small column of Dowex 2–OH^- (200 ml). After washing with about 10 liters of water, the two columns were separated. Amino acids left in the Amberlite IR–45 column were displaced with 0.5 N–HCl without fractionation until the effluent no longer gave a positive result with *p*-nitrobenzoylchloride and pyridine.[2] This fraction was then applied on the column of Dowex 2 previously separated. After the column had been washed with water, amino acids were displaced with 0.2 N–HCl. In this case the column had a tendency to become clogged, so that it was necessary to displace the amino acid under a high pressure. The factor that caused the disturbance of the displacement, could be removed by making the solution alkaline. For this purpose, the effluent was made alkaline by the addition of N–NaOH and left in a room temperature overnight. The resultant precipitate was filtered off and the effluent was again applied to a column of Dowex 2–OH^- (130 ml.). Amino acids were displaced with 0.2 N–HCl to 24 fractions 25 ml. each (Fig. 2). Unknown A was obtained purely in the later part of the fractions; it was crystallized from aqueous ethanol. The fractions where taurine and unknown B eluted together (Band 1 in Fig. 2) were pooled

and refractionated on a column of Dowex 2 with 0.1N-HCl as a displacement agent (Fig. 3). Each of the pure solutions was concentrated *in vacuo*, and crystallized from aqueous ethanol.

	Yield	Nitrogen	Melting point
Taurine	1.2 g	11.32%	300–310°C. (Decomposition)
Unknown A	0.9 g	7.15%	258°C.
Unknown B	0.8 g	7.09%	161°C.

Isolation from I. cornucopiae....Three kg. of dried sample were used. The method for the isolation was practically the same as that described above.

	Yield	Nitrogen	Melting point
Taurine	4.1 g.	11.15%	300–315°C. (Decomposition)
Unknown A	0.8 g.	6.97%	258°C.
Unknown B	2.4 g.	7.20%	161°C.

Isolation from N. yendoana....Two kg. of dried sample were used. The method for the isolation was the same as that described above. The unknown B that was obtained from above two algae could not be detected in this alga. Figure obtained by the first fractionation is shown in Fig. 4.

	Yield	Nitrogen	Melting point
Taurine	7.1 g.	11.18%	300–315°C. (Decomposition)
Unknown A	0.9 g.	70.9%	258°C.

Summary

From the non-absorbable fraction of the ethanol extract of red algae on strong cationic ion-exchange resin, taurine and two ninhydrin reactive substances were isolated and their distribution in various algae was examined.

References

1. LINDBERG, B.: *Acta Chem. Scand.*, **9**, 1323 (1955).
2. PLATTNER, Pl. A. and NAGER, U.: *Helv. Chim Acta.* **31**, 2203 (1948).
3. KURIYAMA, M.: *This journal*, **27**, 689, (1961).
4. PARTRIDGE, S. M. and BRIMLEY, R. C.: *Biochem. J.*, **51**, 628 (1952).

NINHYDRIN REACTIVE SUBSTANCES IN MARINE ALGAE—III. ON THE CHEMICAL STRUCTURE OF "UNKNOWN A" ISOLATED FROM RED ALGAE

Mitsuo KURIYAMA*

(Received Apr. 3, 1961)

In the previous paper,[4] the author noted his isolation from some species of red algae of two unknown ninhydrin reactive substances in the non-absorbable fraction on strong cationic ion-exchange resin. One of them "unknown A" has now been found to be N-(1-carboxyethyl)-taurine. It was given the name "rhodoic acid" because of its wide distribution in red algae.

This substance melted at 258°C. Elementary analysis agreed with the formula $C_5H_{11}O_5NS$. Optical rotation gave a value $(\alpha)^{13}_D = -1.15$ (C=5, mol NaOH solution). It was very soluble in water and its solution showed strong acidity. It was not precipitated with mercuric acetate, basic lead acetate or mercuric chloride. It gave a copper complex (m. p. 229°C. decomposition). It was not very sensitive to ninhydrin but gave a strong bright brown colour with *p*-nitrobenzoylchloride and pyridine. The alcoholic solution was titrated with N/10–NaOH, estimated values were 63.82 and 63.79 per cent (calculated as C_4H_9N–SO_3H and –COOH, 66.16%). By the method of KUHN and ROTH,[1] 10.07 per cent of C–CH_3 was estimated; this finding might reveal the existence of at least one radical of C–CH_3 (calculated as $C_4H_8O_5N$–CH_3, 7.16%). In view of the positive result obtained by use of *p*-nitrobenzoylchloride and pyridine, the new acid was oxidized with potassium hypochlorite solution, but no amine was detected. On the other hand, from the residue, taurine was isolated. By oxidation with potassium permanganate, taurine and alanine were obtained as crystals and acetic acid, propionic acid were detected on paper chromatograms. From these results, the structure of N-(1-carboxyethyl)-taurine was assumed.

$$HO_3S\text{—}CH_2\text{—}CH_2\text{—}NH\text{—}\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{CH}}\text{—}COOH$$

Rhodoic acid (N-(1-carboxyethyl)-taurine)

Synthetically obtained DL-N-(1-carboxyethyl)-taurine from *α*-brompropionic acid and taurine melted at 251°C. but quite agreed with the isolated crystals "unknown A" in respect to their *Rf* values on various paper chromatograms. The difference in melting point may be due to the optically active form and a racemic one. On the other hand, an isomer N-(2-carboxyethyl)-taurine, obtained from *β*-alanine and sodium 2-bromethansulfonate, melted at 242°C. and gave a negative result with *p*-nitrobenzoylchloride and pyridine. These facts confirmed the structure of N-(1-carboxyethyl)-taurine.

* Faculty of Fisheries, Hokkaido University Hakodate, Japan (栗山光央, 北海道大学水産学部)

This acid may be considered as the oxidation product of L-1,4-thiazane-3-carboxylic acid S-oxide isolated from *Chondria crassicaulis*[2] and the finding of both acids in *Chondrus ocellatus* collected in Apr.[4,5] may suggest the existence of the relationship between the two. This finding may also suggest the possible pass way for the biosynthesis of polysaccharide sulfate esters or, furthermore, for the biosynthesis of protein sulfur in red algae.

Experimental

The crystals obtained as described in the previous paper from three species of red algae gave practically the same results upon elementary analysis.

Estimated	C (%)	H (%)	O (%)	N (%)	S (%)
Cryst. from *C. ocellatus*	30.41	5.56	40.68	7.15	16.20
I. cornucopiae	30.56	5.49	40.55	6.97	16.43
N. yendoana	30.55	5.46	40.66	7.09	16.24
Calculated as $C_5H_{11}O_5NS$	30.46	5.58	40.61	7.11	16.24

The crystal was titrated with N/10–NaOH after dissolved in 90 per cent ethanol.

Crystal	N/10–NaOH titrated (f=1.010)	$-SO_3H$ and –COOH
15.9 mg.	1.60 ml.	63.82%
20.2 mg.	2.02 ml.	63.79%
Calculated as $C_4H_9N-SO_3H$ and –COOH,		66.16%

By the method of Kuhn and Roth,[1] $C-CH_3$ was estimated as acetic acid.

Crystal	N/50–NaOH titrated	$C-CH_3$
20.1 mg.	6.75 ml.	10.07%
Calculated as $C_4H_8O_5NS-CH_3$,		7.61%

Oxidation with Potassium Hypochlorite Solution....The crystal above noted (500mg.) was dissolved in 5 ml. of N–NaOH and 10 ml. of potassium hypochlorite solution (0.645 g. of KOCl contained) was added. The mixture was heated on an oil bath with a current stream of N_2 gas and resultant amines were led into 10 ml. of N–HCl. When the reaction mixture dried out, it was cooled and after addition of 10 ml. of water, it was again heated. These procedures were repeated four times. From the hydrochloric acid fraction, only a trace of ammonium chloride was obtained. The reaction mixture was then dissolved in 20 ml. of water, applied to a column of Dowex 50–H^+, but neither amines nor amino acids were detected in the Dowex 50 absorbable fraction. Non-absorbable fraction on Dowex 50 was applied to a column of Dowex 2–OH^-; only taurine was detected on paper chromatograms. It was crystallized from aqueous ethanol (yield, 25 mg., m. p. 320°C. estimated N, 11.12%).

Oxidation with Potassium Permanganate....Rhodoic acid (1 g) was dissolved in 20 ml. of water and was neutralized by addition of 4 ml. of 2N–NaOH. To the solution, 0.5 per cent potassium permanganate solution was dropwise added at the room temperature until the solution gave practically negative result with p-nitrobenzoylchloride and pyridine. At the beginning of oxidation, the solution was slightly heated on a water bath of about 70 to 80°C. because of the stabilitity of this substance to

oxidation. After filtering off the precipitate, the solution was made alkaline by addition of 2 ml. of 2N–NaOH and concentrated *in vacuo* to dryness. The residue was dissolved in 10 ml. of water, acidified by means of addition of concentrated hydrochloric acid and extracted organic acid with ether. After removal of ether, organic acid fraction was converted to hydroxamic acid and developed on paper chromatograms.[3] Obtained spots were in good agreement with acetic acid and propionic acid in various solvent systems. The water soluble fraction was then applied to a column of Dowex 50, then the fraction non-absorbable on this resin was applied to a column of Dowex 2. After the column has been washed with water, each column was displaced with 0.2 N–NH_4OH and 0.2 N–HCl respectively. From the Dowex 2 fraction, taurine was obtained in pure form as a crystal (yield 150 mg., m. p. 300–320°C). Estimated nitrogen was 11.13 per cent (calculated N, 11.2%). From the Dowex 50 fraction, pure alanine was obtained as a crystal (yield 23 mg., estimated N, 15.92%, calculated N, 15.72%). No other ninhydrin reactive substance was detected on either of the fractions except a small amount of original substance.

Synthesis of DL-*N-(1-Carboxyethyl)-Taurine*....Eight g. of sodium hydroxide and 6.3 g. of taurine were dissolved in 20 ml. of water. To the solution 8 g. of α-brompropionic acid was added dropwise, the reaction mixture being kept in an ice bath. After the mixture was left in room temperature for a week, it was acidified with concentrated hydrochloric acid, and excess of α-brompropionic acid was extracted with ether. Aqueous solution was then diluted to about 200 ml. with water and applied to a column of Dowex 2–OH^-. Amino acids were eluted with 0.2 N–HCl as a displacement agent. Synthetically obtained DL-N-(1-carboxyethyl)-taurine was eluted after taurine. Pure solution of this acid obtained by repeated fractionation on this column, was concentrated *in vacuo* and was made to crystallize from ethanol (yield 5.5 g).

	C (%)	H (%)	O (%)	N (%)	S (%)
Estimated	30.39	5.57	40.63	7.14	16.27
Calculated as $C_5H_{11}O_5NS$	30.46	5.58	40.61	7.11	16.24

The synthetically obtained crystal melted at 251°C. and its copper complex melted with decomposition at 229°C. The crystal (20mg.) was combined with the same amount of isolated amino acid and recrystallized from aqueous ethanol, but no change was observed in the melting point (251°C).

Summary

A new amino acid which was isolated from some species of red algae has now been proven to be N-(1-carboxyethyl)-taurine and it was given the name "rhodoic acid" because of the wide distribution in red algae.

References

1. Eisenbaun, E. J., McElvain, S. and Aycock, B. F.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **76**, 607 (1954).
2. Kuriyama, M., Takagi, M. and Murata, K.: *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, **11**, 58 (1960).
3. Inoue, Y. and Noda, M.: *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, **24**, 291, (1950).
4. Kuriyama, M.: *This journal*, **27**, 694 (1961).
5. Kuriyama, M.: *This journal*, **27**, 689 (1961).

海藻の揮発成分に関する化学的研究—XVIII.*
コンブ *Laminaria sp.* の揮発成分の gas chromatography による分析 (その 4)**

片 山 輝 久

(1961 年 4 月 25 日受理)

CHEMICAL STUDIES ON VOLATILE CONSTITUENTS OF SEAWEED—XVIII.
ANALYSIS OF THE VOLATILE CONSTITUENTS OF *LAMINARIA SP.* BY GAS CHRMATOGRAPHY (4)

Teruhisa KATAYAMA***

In the present series of work, the auther has been studing such subjects as (a) the so-called "tang of the sea", (b) the principle of aromatic and odoriferous compounds of seaweed, (c) pharmacological and antibacterial activity of these volatile compounds, (d) the biochemical significance of the volatile constituents (e) the difference between the volatile constituents of Chlorophyceae, Phaeophyceae and Rhodophyceae and (f) the difference between the volatile constituents of seaweed and land plants.

In the preceding papers of the series, the presence of methanethiol, formic, acetic, propionic, isovaleric, caprylic, caproic, myristic, palmitic, linolic acids, *p*-cresol, benzaldehyde, *n*-valeraldehyde, α-methylfurfural, furfural, furfuryl alcohol, 1 : 8-cineol, *d*-limonene, and uneikosane was confirmed in *Laminaria sp.* In the present report, the presence of the following compounds was confirmed.:

1. Hydrogen sulfide and very small amount of dimethylsulfide were found in the gaseous phase.

2. Very little amount of acrylic acid was confirmed in lower fatty acid fraction by gas chromatography.

3. Heptenal was separated in carbonyl fraction by column chromatography and confirmed by elemental analysis.

4. In neutral fraction, the presence of furfuryl alcohol, α-pinene, *d*-limonene, 1 : 8-cineol, *p*-cymene, myrcene, ocimene, octenol-3, *n*-octanol, *n*-heptanol, *n*-octylalcohol and linallylacetate were cofirmed by gas chromatography.

Of the volatile constituents, dimethylsulfide, bedzaldehyde, *n*-valeraldehyde, α-methylfurfural, furfural, α-pinene, *d*-limonene, 1 : 8-cineol, myrcene, ocimene, *p*-cymene, octenol-3, *n*-heptanol, *n*-octyl alcohol, linallylacetate are aromatic compounds of *Laminaria sp.*, while hydrogen sulfide, methanethiol, trimethylamine, formic, acetic, propionic, acrylic, butyric, isovaleric, caprylic, caproic, linolic acids and *p*-cresol are odoriferous compound .

---

* 前報—XVII. Analysis of the Volatile Constituents of *Ulva pertusa k.* by Gas Chromatography., *Arch. Biochem. Biophys-*, in press. (New York).

** 本研究の一部は昭和 35 年度文部省科学研究費（各個研究）により実施した。

*** 広島大学水畜産学部 (*Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ., Fukuyama, Japan*).

海藻の香気と臭気成分の本体，海藻による揮発成分の異同，これ等揮発成分の抗菌性，薬理作用および生化学的存在意義ならびに海藻の揮発成分と陸上植物の揮発成分の異同を明らかにする目的で本研究を実施している。

コンブ *Laminaria sp.*（釧路産長切コンブ）の揮発成分については，methanethiol, trimethylamine, formic, acetic, propionic. butyric, isovaleric, caprylic, caproic, myristic, linolic, palmitic acids, n-valeraldehyde, benzaldehyde, α-methylfurfural, furfural, furfuryl alcohol, 1:8-cineol, d-limonene, p-cresol, uneikosan の存在を明らかにして報告したが[1),2),3),4)]，蒸留気相中に硫化水素および微量の dimethylsulfide の存在を確認し，低級脂肪酸区は gas chromatography により微量の acrylic acid の存在を確認した。carbonyl fraction は chromatoplat および column chromatography により[1)]，更に gas chromatigraphy により benzaldehyde, n-valeraldehyde, α-methylfurfural, furfural の存在を確認したが[4)]，今回更に heptenal の存在を確認した。中性区分は分留後 chromatostrip にかけ，furfuryl alcohl, 1:8-cineol, d-limonene の存在を明らかにしたが[2)]，gas chromatography にかけ，その retention time より furfuryl alcohol, α-pinene, d-limonene, myrcene, p-cymene, 1:8-cineol, octenol-3, n-heptanol, n-octylalcohol, linallylacetate の存在を明らかにしたのでここに報告する。

実　　験

1. 蒸留気相より硫化水素および微量の dimethylsulfide の分離確認

DATEO ら[5)] が加熱 cabbage より揮発性硫黄化合物を分離確認する際に用いた方法を用いた。すなわちコンブ *Laminaria sp.*（釧路産長切昆布2等，以下この試料を用う）を水蒸気蒸留するに当り凝縮しない気相を 20% $CaCl_2$ sol., $(CH_3COO)_2Pb$ 充塡U字管（100メッシュの大きさの細粉として充塡した），4% $Hg(CN)_2$ sol., 3% $HgCl_2$ sol. の洗滌瓶を順次通過せしめ，硫化水素，mercaptane, dimethylsulfide をそれぞれ分割沈澱せしめた。乾燥コンブ *Laminaria sp.* 5 kg. より次のごとき収量を得た。

Table 1. Yield of the volatile sulfur compounds in dried *Laminaria sp.* (5 kg)

Compounds	Yield (mg)
H_2S as PbS	230
Mercaptane as $Hg(CN)_2$ salt	0.001
Dimethylsulfide as $HgCl_2$ salt	1.0

すなわち硫化水素，微量の dimethylsulfide および mercaptane の存在を確認した。

2. 低級脂肪酸区（$NaHCO_3$ sol. 区）[4)] より微量の acrylic acid の確認

silicone に 10% stearic acid 混合：celeit 545 (1:2) を充塡した column を第1 column とし，reoplex 400:celeit 545 (20:80) を充塡した column を第2 column とし直列に連結して gas chromatography にかけ[4)]，その retention time より微量の acrylic acid の存在を確認した。これ等の結果は

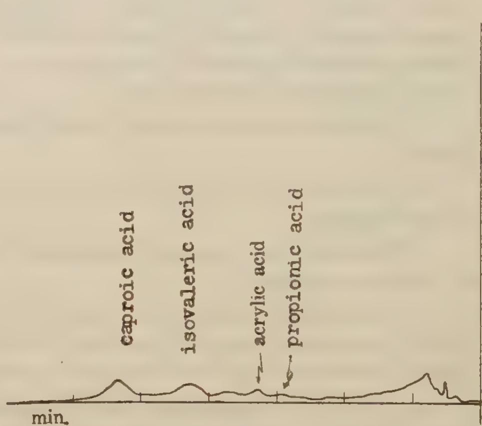


Fig. 1. The separation of the lower grade fatty acid fraction ($NaHCO_3$ sol. fraction) of volatile constituents in *Laminaria sp.* Column: 1st. column, 2 m. silicone DC containing 10% stearic acid (W/W) was added to celeit 545 (1:2), 2nd. Column, 2m. reoplex 200 : celeit 545 (20 : 80) Carrier: He, Flow rate 40, Press 0.45 kg/cm², Bridge curr. 12 V, 80 mA. Column temp. 160°C. Chart speed 10 mm/min.

column chromatography の結果とほぼ一致した。

3. Carbonyl 区[4] より heptenal の単離

既報のごとく[1]，chromatoplate 上 Rf 値 0.27 (B) band のを集め活性アルミナを吸着剤とし benzene を展開剤として column chromatography にかけると pink の band と red の band を得た。pink の band より α-methylfurfural の存在を確認した[1]。 red の band はすでに報告したごとく[1]，silica gel (MALLINCKRODT) : celeit (JOHONS-MANVILLE) (2 : 1) を吸着剤とし 2 % ethylether in petroleum benzine を展開剤として窒素ガス加圧下に column chromatography にかけ濃紅色の結晶を得た。methanol より再結すると m. p. 192～193°C の針状結晶を得た。元素分析の結果は次のごとくであつた。

試　料	3.318$_{mg}$	N_2 0.5414$_{cc}$	温　度 15.9°C	気圧 762.0$_{mm}$
実験値	N	19.33%		
$C_{13}H_{16}N_4O_4$ (heptenal) としての理論値		19.24%		

アオサ *Ulva pertusa* より得た同一区分[6] (元素分析：N，19.29% m. p. 191～192°C) と混融しても融点の降下をみず，また赤外線吸収スペクトルもよく一致した。したがつて heptenal の存在を確認した。

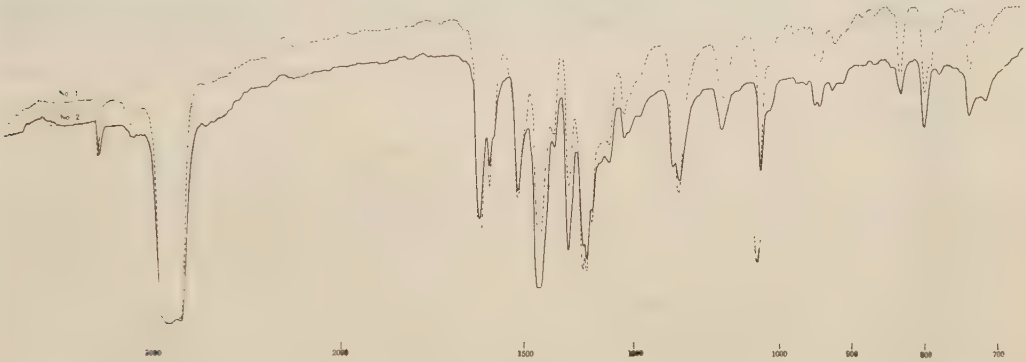


Fig. 2. No. 1, The infrared absorption of a 2, 4-dinitrophenydrazone (m. p. 191～192°C) gained from *Ulva pertusa K.*
No. 2, The infrared absorption of a 2, 4-dinitrophenydrazone (m. p. 192～193°C) gained from *Laminaria sp.*

4. 中性区分[4] の gas chromatography による分析

揮発成分の gas chromatography による分析については LIBERTI ら[7]は citrus oil, german terpentine oil, bergamot を，また BERNHARD[8] は lemon oil を gas chromatography にかけて報告している。著者はこれ等を参考として gas chromatography にかけた。

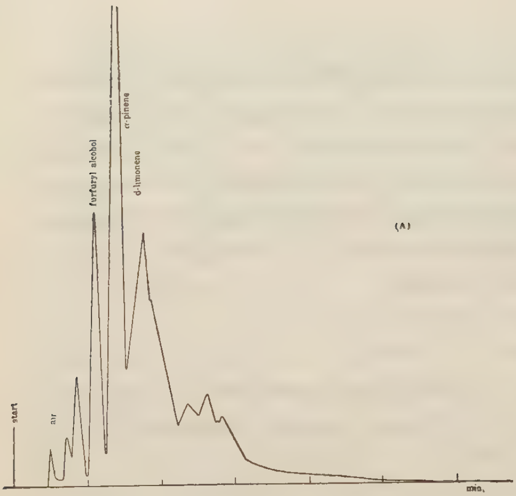
コンブ *Laminaria sp.* の揮発成分より amine 区，脂肪酸区，phenol 区，carbonyl 区を除去した中性区分（炭化水素，alcohols, esters, oxides を含む）を無処理のまま gas chromatography にかけると，前報のごとく[4] ほとんど分離しなかつた。分留をして低沸点の monoterpene fraction を集めた。

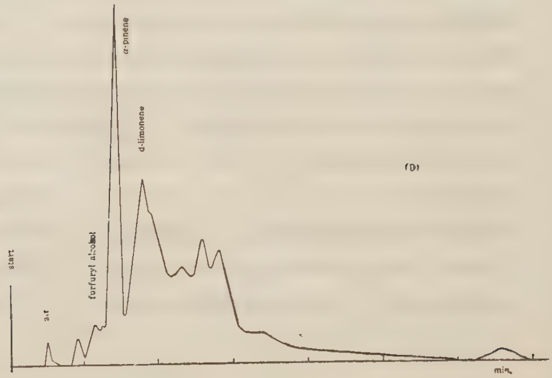
monterpene の存在する区分を gas chromatography にかけると次のごとくであつた。(**Fig. 3**)

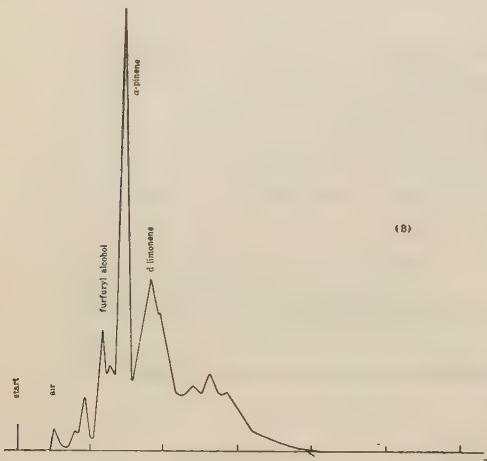
すなわち furfuryl alcohol, α-pinene, d-limrnene の存在をそれ等の retention time より確認した。

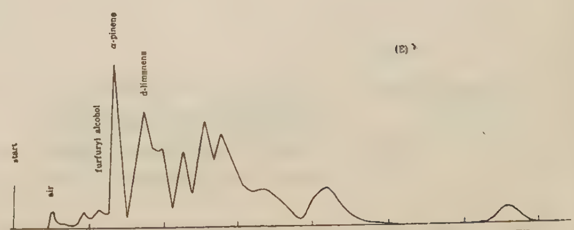
更に分離をよくするため，含酸素区分と炭化水素区分に分割した。

上記二区分の分割についてはすでに報告したごとく[3),9]，n-hexane を展開剤として silica gel を吸着剤として chromatostrip にかけると含酸素物は Rf 値 0.5 以下に，炭化水素の Rf 値は 0.6 以上にある。これと全く同一の組成の吸着剤を充填した column を用い column chromatography にかければ両者は分割せられるはずである。吸着剤 cilica gel (MALLINCKRODT) : celeit (JOHNS-MANVILLE) (2 : 1) をよく混合して 24 時間 140°C に乾燥し column (長さ 25 cm，径 2.6 cm) に充填し n-hexane を展開剤として，窒素









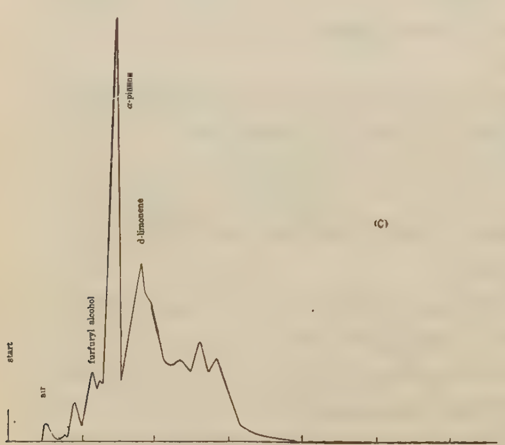


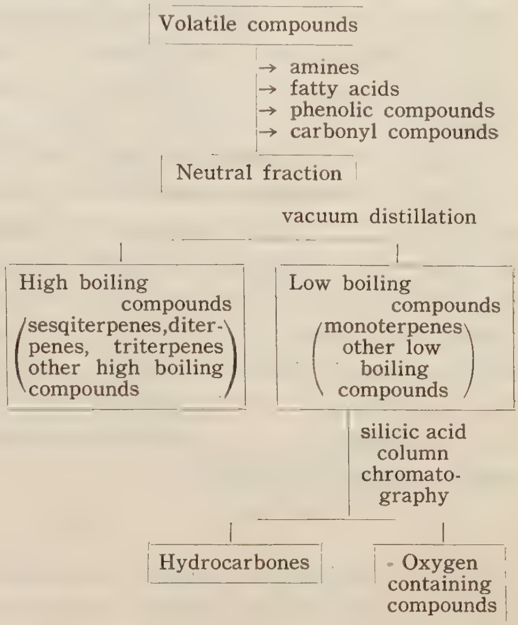
Fig. 3. The separation of the low boiling part of the neutral fraction in *Laminaria sp.*
Column: silicone DC 200 F on celeit 545 (20:80), Carrier: He, Flow rate 45, Press. 0,3 kg/cm², Bridge curr. 6V, 168mA, Chart speed 10mm/min. Column temp. 160°C, Span 8 mV.
(a). b. p. −45°C at 15 mm.
(b). b. p. 46~50°C 〃
(c). b. p. 51~55°C 〃
(d). b. p. 56~60°C 〃
(e). b. p. 61~70°C 〃

ガス加圧下（1秒間に1滴流下するごとく窒素ガスをガス調節器にて調節す）に column chromatography にかけ，炭化水素を集め炭化水素の流出終末は流出液をとり chromatostrip[8] にかけその存否をみ，spot のみられなくなるまで chromatography を続けた。純 α-pinene, d-limonene terpinolene, p-cymene, β-phellandrene を column chromatography にかける予備試験では約 250 cc にて流出し終る）炭化水素の流出がみられなくなつた後 15% ethylacetate in n-hexane を展開剤として column chromatography を続け，含酸素物を含む流出液を集めた。分割法を図示すれば Table 2. のごとくである。

炭化水素区と含酸素区分は別々に炭酸ガス気流中にて減圧下に 45°C で濃縮して gas chromatography にかけると **Fig. 4, Fig. 5** のごとき結果を得た。

すなわち furfuryl alcohol, α-pinene, d-limonene, myrcene, ocimene, p-cymene, 1:8-cineol, octenol-3, n-heptanol, n-octylalcohol, linallylacetate の存在をそれ等の retention time より同定した。

Table 2. Preliminary separation scheme of oxygen containing compounds and hydrocarbones.



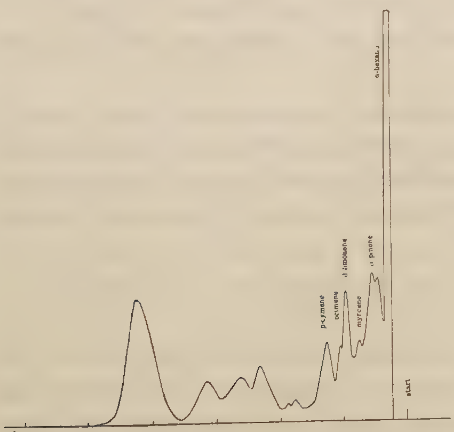


Fig. 4. The separation of hydrocarbone fraction by gas chromatography. Column: 2 m. reoplex 200 : celeit 545 (20:80). Carrier: He, Flow rate 50, Press 0.45 kg/cm². Bridge curr. 12 V, 80 mA. Column temp. 140°C. Chart speed, 10 mm/min. Span, 8 mV.

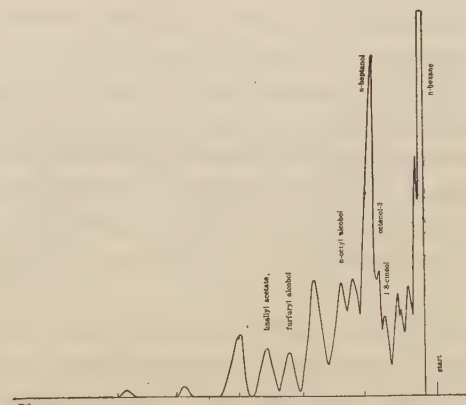


Fig. 5. The separation of oxygen containing fraction by gas chromatography. Column: 2m. reoplex 200 : celeit 545 (20:80). Carrier: He, Flow rate 50, Press 0.45 kg/cm². Bridge curr. 12 V, 80 mA. Column temp. 160°C. Chart speed, 10mm/min. Span, 8m V.

論　　　議

すでに報告したごとく[4),10),11)]，energy 附与に関与する dimethylsulfide（4価→2価）および窒素の assimilation に関与すると思われる acrylic acid は緑藻（アオサ *Ulva pertusa*, アオノリ *Enteromorpa sp.*, ミル *Codium fragile*）に多く含まれるも，コンブ *Laminaria sp.* のごとき褐藻にはいずれも微量含まれていた。したがつてこれ等の前駆物質である dimethylpropiothetin の含量も当然差異があると考えられる。

Carbonyl 区分で benzaldehyde, α-methylfurfural, heptenal はほとんど総べての海藻に含まれ carbonyl 区の主成分であるが，この他 n-valeraldehyde, furfurl は緑藻に比較してコンブ *Laminaria sp.* には多量含まれていた。これらのうち heptenal は陸上植物揮発成分中の $\alpha\cdot\beta$-hexenal に相当し生化学的に興味深い。中性区分中 heptanol はコンブ *Laminaria sp.* に多量含まれるもアオサ *Ulva pertusa* には少量含まれ陸上植物の青葉アルコール（hexenol）に相当するものと考えられる。これ等は "陸上植物の揮発成分と海藻の揮発成分の異同" について詳述した[12)]。また furfuryl alcohol はアサクサノリ *Porphyra tenera K.*, 海人草 *Digenia simplex* のごとき紅藻には含まれず，緑藻（アオサ *Ulva purtusa K.*, アオノリ *Enteromorpha sp.*, ミル *Codium fragile*），褐藻（コンブ *Laminaria sp.*, ウミトラノオ *Sargassum sp.*）に存在を確認している。これ等は生化学的に興味ある問題で本質的差異であるかどうか目下新鮮な生海藻について実験中で後報に譲る。

総　　　括

1. コンブ *Laminaria sp.* の産地別，また等級別により揮発成分の含量に差異はみられるが[3)]，揮発成分としてすでに報告した methanethiol, trimethylamine, formic, acetic, propionic, butyric, isovaleric, caprylic, caproic, myristic, linolic, palmutic acids, p-cresol, benzaldehyde, n-valeraldehyde, α-methylfurfural, furfural, furfuryl alcohol, 1 : 8-cineol, d-limonene, uneikosane の存在を明らかにしていたが本研究により硫化水素，微量の dimethylsulfide および acrylic acid, heptenal の他 gas chromatography により α-pinene, myrcene, ocimene, p-cymene, octenol-3, n-octylalcohol, linallylacetate の存在をそれ等の retention time より固定した。

2. コンブ *Laminaria sp.* の臭気成分は硫化水素，methanethiol, trimethylamine, formic, acetic, acrylic, propionic, butyric, isovaleric, caprylic, caproic, linolic acids, p-cresol 等で香気成分は dimethylsulfide, benzaldehyde, n-valdraldehyde, α-methylfural, furfural, heptenal, furfurylalcohol, α-pinen, d-limonene, 1 : 8-cineol, myrcene, ocimene, p-cymene, octenol-3, n-heptanol, n-octylalcohol, linallylacetate 等であることを明らかにした。これ等香気成分に微量の臭気成分を添加することにより香気は更に強くなる。また量的差異により香気が強くなりまた臭気が強くなることを明らかにした。

本研究の進展に当り終始御懇切に御指導を賜つた九州大学農学部富山哲夫教授に厚く感謝の意を表す。また gas chromatography は高砂香料工業株式会社において実施したもので便宜を与えられた同研究所印藤元一，湯川弘両氏に謝意を表す。有益な助言を賜つた California 大学の Dr. R. A. Lewin，国立予防衛生研究所保野景典両氏に感謝の意を表す。

文　　　献

1) 片山輝久：本誌，**24**，346～354 (1958).
2) 片山輝久：本誌，**24**，925～932 (1959).
3) 片山輝久：本誌，**26**，818～822 (1960).
4) 片山輝久：本誌，**27**，75～84 (1961).
5) G. P. Dateo, R. C. Clapp, D. A. M. Mackay, E. J. Hewitt and T. Hasselstron: *Food Research*, **22**, 440～446 (1957).

6) T. KATAYAMA: *Arch. Biochem. Biophys.*, 1961, 印刷中。
7) A. LIBERTI and G. P. CANTONI: *"Analysis of Essential Oil by Gas Chromatography" a chapter in "Gas Chromatography"* edited by D. H. DESTY, *Butterworths Scientific Publication, London*, p. 321～329 (1958).
8) R. A. BERNHARD: *J. Chromatog.*, **3**, 471～476 (1960).
9) 片山輝久: 本誌, **26**, 814～817 (1960).
10) 片山輝久: 藻類, **8**, 79～84 (1960).
11) T. KATAYAMA: *"Volatile Constituents" a chapter in "Physiology and Biochemistry of Algae"* edited by DR. R. A. LEWIN, *Academic Press, New York*, 1961.
12) 片山輝久: 藻類 **9**, 1961, 印刷中。

海藻の揮発成分に関する化学的研究—XIX.*

アサクサノリ *Porphyra tenera K.* の揮発成分について (その2)**

片山輝久

(1961年5月10日受理)

CHEMICAL STUDIES ON VOLATILE CONSTITUENTS OF SEAWEED—XIX. ON VOLATILE CONSTITUENTS OF *PORPHYRA TENERA K.* (2)

Teruhisa Katayama***

In a previous report of this series, it was shown that the content of the volatile constituents of Porphyra tenera K. differs according to the habitat, the season of collection, and the commercial grade and is influenced by the environment of the growing place. And the presence of formic, propionic, butyric, valeric, palmitic acids, furfural, α-pinene, and *d*-limonene was revealed..

In the present report, the presence of the following compounds is confirmed.:

1) In the gaseous phase, the presence of hydrogen sulfide and dimethylsulfide is confirmed.

2) In the low grade fatty acid fraction, the presence of acrylic acid is revealed by gas chromatography.

3) In the carbonyl fraction, the presence of benzaldehyde is revealed by gas chromatography.

アサクサノリ *Porphyra tenera K.* の揮発成分の含量については，産地，種付場所，養殖場所の異なる試料を用いて実験した結果，生育環境により支配され，葉体に窒素の含量の多いものは概して揮発成分の含量は多く，季節的変化については，生育の進むにしたがつて増加することを明らかにした[1)]。また揮発成分として脂肪酸区に蟻酸，醋酸，プロピオン酸，酪酸，バレリアン酸，パルミチン酸の存在を，carbonyl 区は chromatostrip により furfural の他 **Rf** 値 0.47 (benzaldehyde に相当) および 0.33 の存在を，また中性区分は分留後 chromatostrip にかけ，α-pinene, d-limonene の存在を明らかにして報告した[1)]。今回蒸留気相の硫黄化合物を分割して，硫化水素の他少量の dimethylsulfide の存在を，低級脂肪酸区に少量の acrylic acid の存在を gas chromatography により明らかにし，carbonyl fraction は gas chromatography および chromatostrip にかけその retention time および **Rf** 値より benzaldehyde の存在を明らかにしたのでここに報告する。

実験および実験結果

実験試料は広島県箕島産アサクサノリ *Porphyra tenera K.* (乾物として約 15 kg) を水蒸気蒸留した。

1. 蒸留気相より硫化水素，dimethylsulfide の確認

---

* 前報—XVIII. 本誌 **27**, 703, 1961,

** 本研究の一部は昭和35年度文部省科学研究費 (各個研究) により実施した。

*** 広島大学水畜産学部 (Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ., Fukuyama, Japan).

コンブ *Laminaria sp.* の揮発成分中の硫黄化合物の分離確認に用いた装置を使用した[2]。すなわちアサクサノリ *Porphyra tenera K.* を水蒸気蒸留するに際して凝縮しない気相を 20% 塩化カルシウム溶液，酢酸鉛充塡U字管，4%シアン化水銀溶液，3%昇汞溶液の trap を順次通過せしめた。

a．硫化水素の確認　酢酸鉛充塡U字管の上部が黒変した。この黒変部を取り出し稀硝酸を作用させると硫化水素の臭気を生じ，硫化水素と反応して硫化鉛を生じたことが明らかである。

b．Dimethylsufide の確認　dimethylsulfide は昇汞と複塩 ($3HgCl_2 2(CH_3)_2S$) を作り沈澱した。この複塩の融点を測定すると m. p. 151～152°C にして，アオサ *Ulva pertusa* より得た dimethylsulfide の複塩 (m. p. 150～151°C)[3] と混融しても融点の降下はみられなかつた。したがつて dimethylsulfide の存在を確認した。

硫化水素，dimethylsulfide の収量は **Table 1.** のごとくであつた。

Table 1. Yield of volatile sulfur compounds of *Porphyra tenera K.*

Compounds	Yield mg (in dried matter)
Dimethylsulfide as $3HgCl_2 2(CH_3)_2S$	2.3
Hydrogen sulfide as PbS	140

2．低級脂肪酸区[4] より acrylic acid の確認

さきに低級脂肪酸区[4] は paper chromatography にかけ，蟻酸，酢酸，プロピオン酸，酪酸，バレリアン酸の存在を明らかにしたが，silicone に 10% stearic acid 混合：celeit 545（1：2）を充塡した column を第 1 column とし，reoplex 400：celeit 545 (20：80) を充塡したcolumn を第 2 column として直列に連結して[4] gas chromatography にかけ，少量の acrylic acid の存在をその retention time より同定した。

3．Carbonyl 区[4] より benzaldehyde の確認

Carbonyl 区[4] は chromatostrip にかけ furfural および benzaldehyde に相当する Rf 値 0.33，0.47 を

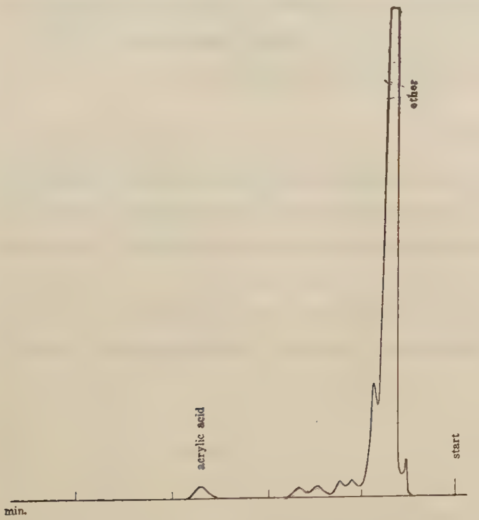


Fig. 1. The separation of the lower grade fatty acid fraction ($NaHCO_3$ sol. fraction) of volatile constituents in *Porphyra tenera K.* Column: 1st. column, 2 m. silicone DC containing 10% stearic acid (W/W) was added to celeit 545 (1：2). 2 nd. column, 2 m. reoplex 200：celeit 545 (20：80). Carrier: He, Folw rate 40, press 0.45 kg/cm², Bridge curr. 12V, 80 mA, Column temp. 160°C, Chart speed 10mm/min.

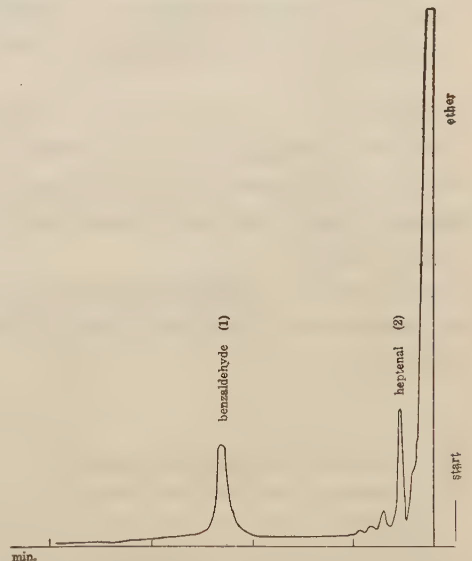


Fig. 2. The separation of the carbonyl fraction of volatile constituents in *Porphyra tenera K.* Column, 2 m. reoplex 400: celeit 545 (20:80). Carrier: He, Flow ratd 50, Press 0.84 kg/cm², Bridge curr. 12V, 80mA, Column temp. 160°C, Chart speed 10mm/min.

の存在を明らかにしたが，reoplex 400 : celeit 545 を吸着剤として充塡した column を用いて[4] gas chromatography にかけ，その retention time より benzaldehyde の存在を同定した。（2）は heptenal に相当するも目下研究中である。

論　　議

陸上植物においては，山西[5] は緑茶の上質のもの，柳，桑の若葉に硫化水素の含量多く，また煎つて香ばしい香りを出すゴマ，南京豆にも硫化水素の発生をみている。またこれら硫化水素の前駆物質は cystine, cysteine であるといわれている。著者もコンブ *Laminaria sp.*[2]，アサクサノリ *Porphyra tenera K.* に硫化水素の存在を確認した。したがつて硫化水素そのものは悪臭であるが， benzaldehyde, furfural, terpene 類と共存すると良い香りを引きたたせているのであろう。これに反し風乾および生のアオサ *Ulva pertusa*，アオノリ *Enteromorpha sp.* 等の緑藻には少量の硫化水素の存在は認められ，揮発性硫黄化合物は dimethylsulfide が主体であつた[5]。またアサクサノリ *Porphyra tenera K.* 中に少量の dimethylsulfide, acrylic acid の存在を確認し，アオサ *Ulva pertusa*，アオノリ *Enteromorpha sp.* コンブ *Laminaria sp.* 同様その前駆物質である dimethylpropiothetin を含み，熱のため dimethylsulfide と acrylic acid を生じたものと考えられる。なお著者は phytoplankton の色素研究中[7] dimethylsulfide の存在をみ，acrylid acid 臭を認めた。最近 ARMSTRONG ら[8] も diatom 中に dimethylsulfide の存在を確認しており，また谷川ら[9] は白サケ缶詰の石油臭は plankton より来た dimethylsulfide であるといわれており，その前駆物質 dimethylpropiothetin を含むことが予想される。一方 homocystine は鼠の肝臓，腎臓の酵素により dimethylpropiothetin の存在で methionine になることが明らかにされている[10,11]。藻類においては，大多数のものは含量に多少はあるが，dimethylpropiothetin を含み，ammonium 塩，硝酸塩が存在すれば酵素により dimethylsulfide と acrylic acid を生じ，硫黄は4価から2価となり，energy 授受に関与し，acrylic acid は alanine となり amino 酸生合成の母体となり窒素の assimilation に関与するのではないかと考えられる。本問題については新鮮な生海藻を用い更に研究続行中である。

総　　括

アサクサノリ *Porphyra tenera K.* の揮発成分の含量は，生育環境により，また採収時期，品質により異なるが[1]，蟻酸，酢酸，プロピオン酸，酪酸，バレリアン酸，パルミチン酸， furfural, α-pinene, d-limonene の他硫化水素，少量の dimethylsulfide, acrylic acid, benzaldehyde の存在を確認し，heptenal の存在を予想した。

本研究の進展に当り終始御懇切に御指導を賜つた九州大学農学部富山哲夫教授に感謝の意を表す。また gas chromatography は高砂香料工業株式会社研究所において実施したもので，同研究所印藤元一，湯川弘両氏に謝意を表す。

文　　献

1) 片山輝久： 本誌，**22**，244 (1956).
2) 片山輝久： 本誌，**27**，703 (1961).
3) 片山輝久，富山哲夫： 本誌，**17**，122 (1951).
4) 片山輝久： 本誌，**27**，75 (1961).
5) 山西　貞： 化学と工業，**10**，220 (1957).
6) T. KATAYAMA: *Arch. Biochem. Biophy.*, 1961, 印刷中。
7) 片山輝久，小山治行： 未発表.
8) F. A. J. ARMSTROG and G. T. BOALCH: *Nature*, **185**, 761 (1960).
9) 元広輝重，谷川英一： 日本水産学会昭和36年度年会において講演。
10) G. A. MAW and V. DU VIGNEAUD: *J. Biol. Chem.*, **176**, 1029, 1037 (1948).
11) J. W. DUBNOFF and H. BORSOOK: *J. Biol. Chem.*, **176**, 786 (1948).

魚類をクロルテトラサイクリン (CTC) 液に浸漬した場合の CTC 滲透量について

富山哲夫・米 康 夫・藤野清池

(1961 年 5 月 29 日受理)

ON CHLORTETRACYCLINE RESIDUE IN DIP-TREATED FISH

Tetuo TOMIYAMA, Yasuo YONE and Seiya FUJINO*

The present paper deals with the determination of CTC residue in the edible part of several kinds of trolled fish which were dipped ashore several days after capture in sea water solutions of CTC ranging from 10 to 30 ppm. Data presented herein clearly showed that the amount of residue was within a range of 0.1 ppm and was comparable to that of CTC (5 ppm)-iced fish.

It is of interest to note that with the increase in the CTC concentration of the dip solution quality of treated fish was greatly improved in sharp-toothed eel and hairtail having no scales whereas little in white croaker and flounder which were covered with scales.

A discussion has been made on the maximum tolerance of CTC residue, 0.1 ppm in the edible part of fresh fish subject to processing, which was established in 1957 by the Ministry of Public Health aud Welfare. Taking into consideration the extent of destruction of CTC by processing and the safety data for the CTC residue, it is proposed that a tolerance of 2 ppm of CTC in the edible part will be appropriate for the fish subject to processing.

魚類の鮮度保持のために CTC で処理する方法としては，(1)氷に含ませて用いる方法，(2)CTC 溶液を散布する方法，(3) CTC 溶液に浸漬する方法，および(2)に(1)あるいは (3)に(1) を組み合わせる方法などがある。鮮度保持の有効度から従来の data[1,2] を検討すると，(3)の方法が(1)および(2)よりも優れているのが分かる。魚は死後，主として鰓から腐敗菌の侵入を受けるので[3]，浸漬法のように CTC 液が鰓に最も触れやすい方法が他より優れているのは当然である。

他方，わが国における CTC の使用規制の現状をみると，1957 年以来許可されている以西底曳漁獲物のうち煉製品用原料魚への使用に加えて，1960年には更に中型底曳漁業，サケ・マス漁業，および北洋タラ延縄漁業で捕獲された魚のうち煉製品，缶詰，塩蔵および塩干品の原料用のものに限り，CTC を 5 ppm 含有する氷で処理することが厚生省から許可されている[4]。しかもこの場合， CTC 氷で処理された魚肉中の CTC 残存許可量は 0.1 ppm と規定されている。しかし前記の許可漁業において，その処理方法として CTC 氷のみに依存することは漁船上のいわゆる“氷繰り”の操作が困難であること，また陸上における CTC 氷の見込み生産の至難であることなどの理由から浸漬処理方法を希望する声が強いので，0.1 ppm というわが国の法定許容量に照らして浸漬法の適，不適を検討することが必要となつた。

既往の浸漬法についての研究をみると，初期の試験研究[1,2] では処理に要するコストの点から CTC 濃度 10 ppm 以下を多く用いていたが，その後の研究[5,6] によつて船上処理のように短時間しか実施できない場合には，濃度を 10 ppm 以上にあげないと充分な効果を収めがたいことが明らかになつてきた。すなわち米等[5] は以西底曳漁獲物を CTC 濃度 10～80 ppm で 2 分間浸漬の条件では，浸漬液の濃度は少なくとも 20～40 ppm とすべきことを結論した。しかし CTC 30 ppm における滲透量について研究した data が文献

* 九州大学水産化学教室 (Lab. Fish. Chem., Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka).

に見当たらないので，本研究においては数種魚類についてこの点を検討した。

実験方法

1. **研究材料**: 福岡港に揚げられた以西底曳漁獲物のうち，鮮度のよいカレイ，キグチ，タチ，ハモおよびエソ（漁獲後4日経過）を，また旋網漁業のものからアジ（漁獲後2日経過）を入手して研究に供した。これらの魚体の大きさは Table 1. の脚註に示す通りである。浸漬用の海水は比重 1.027 (5°C), pH 8.0 のものである。また浸漬用の CTC 製剤は医薬用 CTC, クエン酸，および食塩を 1：1：8 の割合に混合したものである。

2. **浸漬処理および定量試料の調製**: 海水中に浸漬用 CTC 製剤を 100, 200 および 300 ppm の割合に溶解した液，すなわち CTC として 10, 20 および 30 ppm のものを調製し，それぞれの 5 l に対しカレイは8尾，グチは16尾，ハモは8尾，タチは8尾をそれぞれ1分間浸漬した。取り揚げてから一部は白氷をかけて保温袋に納め，0～2°C の室に放置した。一部は軽く水洗してから直ちに頭および内臓を除去し，三枚におろし，皮付肉部を細切し，よく混合してから 20 g を無作為にとり，ミクサーで泥状にブレンドし，これに4倍量の抽出剤を加えて混和抽出し，乾燥沪紙で沪過後，CTC の微生物定量に供した。この定量は富山等の簡易 cylinder plate 法[7]によつた。なお供試魚の浸漬前後における浸漬液の pH は Table 1. に示すように pH 7 前後の値を示した。

3. **揮発性還元物質（VRS）および揮発性塩基窒素（VBN）の定量**: VRS の定量は供試肉の三塩化醋酸抽出液を用いて富山・藤野の微量拡散法[8]によつて行ない，アルカリ性および中性 VRS を求めた。VBN は VRS の定量にあてたと同一抽出液を用いて CONWAY の微量拡散法[9]により定量した。

結果および考察

1. CTC－海水液中に浸漬した直後の滲透量

CTC 液に浸漬処理した場合の滲透量が魚体の大きさ，形，および表皮の構造によつて相違することについては，米等[5]，篠山等[6]の報告がある。因つて本研究では扁平で鱗をもつものとしてカレイ，扁平無鱗のものとしてタチ，円形無鱗のものとしてハモ，円形有鱗のものとしてエソ，紡垂形で有鱗の多くの魚類の代表としてグチおよびアジを選んだ。これらの魚種を種々の CTC 濃度の液に1分間浸漬した場合，皮付筋肉への CTC の滲透量は Table 1. に示すようである。この結果から明らかなように，カレイ，グチ，ハモでは 30 ppm の CTC 濃度以下の場合，皮付肉部への滲透量は濃度の上昇と共に多少増加する傾向にあるが，0.1 ppm を越えることは全くなかつた。エソおよびアジの場合も 30 ppm の濃度に浸漬したのでは 0.1 ppm

Table 1. The CTC residue* in unskinned flesh from several species of round fish when dipped in sea-water solutions possessing varying CTC concentrations.

Species of sample fish	Prior to dip	CTC concentration of dip soln. 10 ppm 1-min. dip	10 ppm 5-min. dip	20 ppm 1-min. dip	20 ppm 5-min. dip	30 ppm 1-min. dip	30 ppm 5-min. dip	pH value** 10ppm	20ppm	30ppm
Flounder	——	——	——	0.07	0.14	0.09	0.09	7.0	7.3	7.3
White croaker	neg.	0.01	——	0.05	0.05	0.07	0.09	7.3	7.3	6.9
Sharp-toothed eel	——	0.05	0.05	0.06	0.07	0.06	0.10	6.9	6.9	6.9
Hairtail	neg.	0.08	0.11	0.10	0.13	0.11	0.24	6.9	6.7	6.7
Lizard fish	neg.					0.07	0.06			
Jack mackerel	neg.					0.04	——			

* Expressed as mcg per gram of unskinned flesh. Body length of the sample fish: flounder, 30～33 cm; white croaker, 26～28 cm; sharp-toothed eel, 36-39 cm; hairtail, 34～40 cm.
** pH values of the dip solutions before the dip were all 7.4.

以下の滲透量を示した。CTC の最も滲透しやすい扁平無鱗のタチの場合だけが僅かに 0.1 ppm を越えているが，CTC の微生物検定法の誤差が ±0.01 ppm であることを考慮すれば，0.1 ppm 以上であることの有意性は疑わしい。さらに浸漬時間を5分に延長すると，タチだけが 0.1 ppm以上の滲透量となつたが，他の供試魚種ではカレイの一例を除いていずれも 0.1 ppm 以下であつた。実際の船上作業では多量の漁獲物を急速に処理せねばならないので，5秒以上浸漬処理することは不可能に近い。したがつて浸漬直後の滲透量はさらに少ないであろう。

米等[5] はイボダイを16日間氷蔵した場合に VBN を 30mg% 以下に保つためには，筋肉中に CTC 0.1 ppm を含有さすべきこと，そのためには少なくとも 20 ppm の CTC 海水液に2分間浸漬すべきであると報告した。本研究の結果では 30 ppm の CTC 海水液に浸漬して滲透量を 0.1 ppm に近づけるためには，1分間浸漬すべきであることが分かる。

2. 浸漬魚を白氷で1週間氷蔵した場合の CTC 滲透量および鮮度

前記の処理魚に白氷をかけ 0～2°C の冷蔵庫に1週間貯蔵した後に，各区から4～8尾をとり，皮付肉部への滲透量を微生物検定した。その結果を示した Table 2. をみると，CTC の滲透しやすいタチの場合，滲透量は1週間後に多少減少の傾向であるのに対し，CTC の滲透し難いカレイ，グチでは僅かに増加する傾向にあるのは注目に値する。材料不足のために2週間後の滲透量は求められなかつたが，既往の研究から推察すると，長期貯蔵中には CTC は自然破壊するので，この滲透量は減少するはずである。

浸漬液の CTC 濃度と処理魚の鮮度との関係は Table 3. に示すようである。いずれの場合にも保鮮効果は CTC 濃度に正比例していない。米等[5] がすでに指摘したように，浸漬液の CTC 濃度の対数値と VRS

Table 2. The CTC residue* in unskinned flesh from several species of round fish after one-week ice storage.

Species of sample fish	CTC concentration of dip soln.					
	10 ppm		20 ppm		30 ppm	
	1-min. dip	5-min. dip	1-min. dip	5-min. dip	1-min. dip	5-min. dip
Flounder	0.11	0.24	0.12	0.15	0.12	0.11
White croaker	0.03	0.06	0.12	0.15		
Sharp toothed eel	0.05	0.07	0.05	0.10	0.05	0.12
Hairtail	0.05	0.10	0.12	0.11	0.11	0.19

* Expressed as mcg per gram of sample flesh.

Table 3. The effect of CTC concentrations of the dip solutions upon quality of fish subjected to one-week ice storage.

Species of sample fish	Prior to storage		CTC concentration of dip solution											
			10 ppm				20 ppm				30 ppm			
			1-min. dip		5-min. dip		1-min. dip		5-min. dip		1-min. dip		5-min. dip	
	VBN	VRS	VBN*	VRS*	VBN	VRS	VBN	VRS	VBN	VRS	VBN	VRS	VBN	VRS
Flounder	21.0	72	69.0	243	64.6	130	60.8	189	42.9	130	47.6	167	56.3	162
White croaker	40.2	70	85.7	265	69.3	238	76.0	207	58.3	198	46.4	162	61.2	216
Sharp-toothed eel	18.3	36	26.8	58	26.8	51	28.9	29	21.4	30	22.8	19	19.0	36
Hairtail	18.0	25	59.4	194	56.8	184	63.1	—	22.0	34	18.3	35	15.2	13

* VBN or VRS of unskinned flesh which was sampled from round fish at 1-week of ice storage. VBN value is expressed as mg%, and VRS as microequivalent per gram of sample flesh.

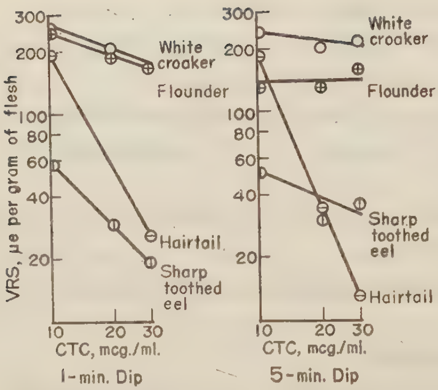


Fig. 1. Relationship between the CTC concentration of dip solution and the freshness of several kinds of fish subjected to 1-and 5-minute dip, respectively.

の対数値とは直線関係を示している (Fig. 1)。興味の多いことには，CTC の滲透しやすい無鱗のタチでは CTC 濃度の増加と共に著明に保鮮効果が増大する。ハモの場合にも同様の傾向が認められる。更に Fig. 1 から分かるように，タチやハモの場合には CTC 濃度を 30 ppm 以上にすることは保鮮の点では意味がないし，またCTC の滲透し難いグチやカレイの場合にも CTC 濃度を更に高めても著しい効果の上昇は期待できない。

3．加工用原料魚に定められた CTC 残存許容量についての論議

前記の data は 30 ppm CTC 液に浸漬処理する方法が CTC 5 ppm 含有氷蔵処理法と滲透量の点では同質に評価すべきことを証拠づけている。他方，食品中における CTC 残存量の安全性について最近多くの研究[10-15]が報告されているので，この点から加工用原料魚に対する CTC の許容量 0.1 ppm の意義について考察してみたい。

米国の Food and Drug Administration が CTC 処理魚体に 5 ppm の残存許容量を法定するに当つては[16]，1959 年までに報告された微量 CTC 残存量およびその安全性に関する諸研究[10-12a]を参考として審議している。すなわち調理した魚肉中に CTC 0.1～0.3 ppm 程度が残存したまま実際に摂取されることを前提として，5 ppm の許容量が設定されている[17]。たとえば CTC 3.8 ppm をもつカレイおよび 3.5 ppm をもつタラを調理すると，必ずしも CTC は完全に破壊されず，フライでは 0.06 ppm および 0.14 ppm，焙焼では 0.8 および 0.7 ppm それぞれ残存した data[12b] も考慮に入れてある。これに対してわが国で加工原料魚に CTC 許容量の設定を審議した 1957 年には，まだ安全性に関する研究が少なかつたので，微量の残存量を危惧した結果，厚生省は 0.1 ppm に定めたのである。当時の研究では，CTC 処理魚体の可食部における滲透量は約 0.1 ppm であつたこと，およびこの 0.1 ppm をもつ原料で煉製品を製造すると CTC が検出されなかつたこと，この二つの事実に基づいて定められたもので，科学的根拠に乏しい。むしろ CTC が製品に検知されないための最大許容量を求め，更に安全性の研究結果を参考として，加工用鮮魚中の CTC の許容量が設定さるべきものと考える。微量 CTC の安全性が明らかになつた現在では，少なくともこの 0.1 ppm の値は加工原料に対する最大許容量とするよりも，むしろ生食される魚を含めた惣菜用鮮魚および加工製品に対する許容量とすべきであると信ずる。また一般加工原料魚に対しては，種々の加工処理後に CTC 残存量が 0.1 ppm 以下となるような原料魚中の最小量をその許容量と決定すべきである。たとえば，製品に 0.1 ppm 以下となるためには，煉製品では原料魚肉に 1.4 ppm（皮付肉では約 2 ppm に相当)[18]，塩蔵品では塩蔵貯蔵日数を低温で 10 日とすれば 3.2 ppm[19]，塩干品では貯蔵を考慮すると恐らく 2 ppm 程度[20]，缶詰品では 10 ppm 程度が原料魚中に残存してよいことになる[12b,21]。したがつて一般加工原料中の CTC 残存許容量はその可食部中に最高 2 ppm と定めらるべきであろう。もつとも米国の FDA 規則のように，「食品のどの部分にも最高許容量以上含んではならない」という規制であれば，魚類のように CTC が特に皮に多く附着する食品には，皮と肉部との重量比が考慮されるので，結局 5 ppm 程度が最大許容量に落ちつくことになる。

摘　　要

1．CTC の滲透速度を異にする数種の底曳魚を 10，20 および 30 ppm の CTC 海水液に 1 分間および 5 分間浸漬した場合の滲透量を求めた。

2．30 ppm 以下のCTC濃度に 1 分間浸漬すると，皮付肉への CTC の滲透量は 0.1 ppm 以下であつた。

実際の漁船上では処理操作として CTC 海水液に5秒以上浸漬するのは困難であるから，船上処理による CTC の滲透量は更に低減するものと推察される。

3. CTC 浸漬魚を白氷で1週間氷蔵した場合の滲透量は，無鱗の魚では減少の傾向を示すが，有鱗の魚では僅かに増加した。恐らく後者では CTC の滲透がきわめて遅いためであろう。

4. 1週間氷蔵後における筋肉中の VRS の対数値に対して浸漬液中の CTC 濃度の対数値は直線関係を保つている。この直線の傾斜は無鱗魚と有鱗魚とで著しく異なる。この結果から浸漬液の CTC 濃度を 30 ppm 以上にあげても，保鮮効果の上昇は僅かであることを論議した。

5. 加工用原料魚中の CTC 残存許容量を 0.1 ppm とする規定には科学的根拠が乏しいので，改訂すべきであると提言した。

文　献

1) 富山哲夫，黒木俊一，前田伝喜，浜田盛治，本田　彰： 本誌，**22**，120 (1956).
2) 富山哲夫，米　康夫，黒木俊一，野村　稔，原昭太郎，七字　徹，前田敏弘，小田一郎，松尾俊明： 本誌，**22**，128 (1956).
3) 富山哲夫，豊田恭平： 昭和33年10月日本水産学会に講演発表
4) 厚生省告示128号（昭和35年5月10日）
5) 米　康夫，富山哲夫，浜田七郎： 本誌，**25**，156 (1959).
6) 篠山茂行，浜田七郎，山田紀作，米　康夫，富山哲夫： 本誌，**26**，361 (1960).
7) 富山哲夫，小林邦男，米　康夫： 本誌，**24**，937 (1959).
8) 富山哲夫，藤野清也： 本誌，**27**，713 (1961).
9) CONWAY, E. J.: Micro-diffusion Analysis and Volumetric Error, rev. ed., 1947, D. Van Nostrand Co. Inc., New York, N. Y.
10) WEINSTEIN, H. I., and WELCH, H.: *Antibiotics Annual*, 1958～1959, p. 643～646.
11) GOLDBERG, H. S., GOODMAN, R. N., and LANNING, B.: *Antibiotics Annual*, 1958～1959, p. 930～934.
12) a) American Cyanamid Co.: Chlortetracycline for the processing of fish (1958), p. 139～426. b) Ditto. p. 503～517.
13) TOMIYAMA, T., YONE, Y., MISAWO, T., MIYAWAKI, H., and MORI, Y.: Proceedings of the 2nd Symposium of International Association of Veterinary Food Hygienists, 1960, Basel, Switzerland.
14) 桑原章吾： 日本医事新報，No. 1751 (1957).
15) 相磯和嘉，飯田宏美： 腐敗研究所報告，**10**，7 (1957).
16) Federal Register, Tuesday, April 21, 1959.
17) GROVE, D. C.: personal communication.
18) 富山哲夫，米　康夫，津田　厚： 本誌，**23**，569 (1958).
19) 富山哲夫，杉谷　徹： 本誌，**24**，581 (1958).
20) 山添健一，野口栄三郎： 日本海区水産研究所研究年報，5号，171 (1960).
21) KAWABATA, T., SAKAGUCHI, G., NAKAMURA, Y.,and AKANO, T.: *J. Antibiotics*, Ser. A, Vol. 8, 180 (1960).

抄　　録

気泡幕による漁法 Editor: *World Fish.*, **9** (11), 39—40 (1960). アメリカの Main にある水産局漁具漁法試験場で，Keith A. Smith 氏指揮のもとに気泡幕による魚群誘導の研究が3年来行なわれてきた。その結果，沿岸建網に魚群を誘導することが実用的な漁法にまで達したので，アメリカ水産局ではこの装置と漁法について詳しく発表した。すなわち実用可能な操業法の一つは，送気管を2船間で彎曲状にして曳きながら所望の方向にニシン魚群を追込むのであるが，潮汐や流れの方向に対して正しく幕をおき，魚を驚かせたり，魚が通り抜けないようにゆつくり気泡幕を移動させる注意が必要である。これによつて建網漁法は待つ漁法ではなくなり，魚群に進み寄つて魚群を建網に積極的に誘導する漁法に変り，漁獲が非常に好結果となつた。400 尋用気幕装置は次のごときものである。コンプレッサー，80 lb/in² の圧力で送気量毎分 106 ft³, 30～50 馬力の機関，アフター・クーラーは Ross 209 A-100型，排気管は径 1 in パイプ，安全弁は 75 lb/in で開き，ポリエチレン送気管は耐圧 75 lb/in² で5区分に分け各区分毎に多少差はあるが，鑽孔の直径は 0.013～0.016 in で 12 in 間隔，錘は 1 ft 毎に 0.2～0.3 lb の をつける。管捲機は，回転ドラム型で巾 54 in. 軸は木か金属製の 20 in 径。(鈴木誠)

回遊魚の回帰性について A. D. Hasler: *Ergebnisse der Biologie*, **23**, 94～115 (1960). 河口に到達したサケ科魚類（以下サケという）が，自分の生れた支流に溯上する習性について，次のような作業仮説をたてている。各支流にはそれぞれ特有の有機臭があつて，成熟して河口に達したサケは，稚魚期にこれらのにおいに対してすでに「条件づけられている」ので，生れた支流に到達するまでは，すべての有機臭を拒絶して溯上していく，この仮説の裏づけとして，室内の学習実験によつて，サケが異なつた支流のにおいを区別できることを明らかにし野外実験において，鼻孔を閉鎖したサケは，正確に生れた支流に溯上できないことを確かめている。また，円形の水槽の中央から跳びでた魚が，各方位にある 16 の小室に任意にはいれるような装置を考案し，一定方位（ここでは真北）の1室に逃避するように条件づけた魚は，太陽が照つている場合にのみどの時刻でも，各方位に向いた室のうちから，条件づけられた方位の1室を選んで逃避することを示した。この性質 (sun-compass mechanism for orientation) は，サケ幼魚も持つており，サケの外洋から河口への回帰になんらかの役割をはたすものとして，今後，海洋におけるサケの移動径路に関する十分な調査の必要性を述べている。(野村　稔)

ニシンの日周ならびに季節的垂直移動 V. M. Erawn: *J. Fish. Res. Bd. Canada* **17** (5), 699～711, (1960). Passamaquoddy 湾におけるニシンの垂直移動については，1898, 1939年にすでに調べられているが，著者は 1947～1958 年における魚探機の記録から若年魚（体長 8.8～20.8 cm）のニシンについて，その日周および季節による垂直変化を調べた。魚探機の記録は，Day, Sunset, Night, Sunrise に区分され，その数はそれぞれ，11. 121. 1,223. 2,015. 689 であつた。また，魚探機の性能上表面から水深 4.3 m までの像は不鮮明なのでその記録は計算から除かれた。記録紙上の映像は厚みをもつており，ここではその中心点で游泳水深を示した。

結果：1. 日周垂直分布。ニシン群は日中は深みに夜間は表面近くまで浮上する傾向を示す。9月の游泳層は午前2時に最も浅く 7m, 8時に最も深く18 m, 日出には 10m, 日没には 7.5m であり，3月では，午前10時に最深で 45m, 午後7時に最浅で 24m であつた。 2. 季節的移動。5～12月は日中の平均游泳層は 10～13m, 夜間は7～7.8mとなり 1～4月はさらに深く，日中は 2.5～3.8mに，夜間は 15m ぐらいとなる。 3. 魚群像の変化。魚群の大きさは記録では長さ 70m, 厚さ 9m を超えることはない。夜になると像は分散し，最初は小群に分かれ，やがて点となる。この変化は 4～9 月では日没 3.5 時間後，11月では 2.5 時間後，12月では2時間後にみられる。 4. 大陽照射熱および水温と游泳層。各月における日中の大陽照射熱とニシンの平均游泳水深との間に相関性は認められない。しかし，水温 2°～7°C の範囲 (12～1～5月) では，水深 30m の月平均水温が低ければ低いほど日中の游泳層は深くなつており，相関々係が認められた。7°～12°C (6～11月) ではこの関係はみられない。(井上　実)

カツオノエボシの刺胞の毒 C.E. Lane: *Ann. New York Acad. Sci.*, **90**, 742—750 (1960). 従来のクラゲ毒研究では刺胞成分以外に触手成分が混在する可能性があつたので，純粋に刺胞のみを分離して，その毒成分を調べた。カツオノエボシの触手を冷蔵庫中で自己消化させ，篩を通して濆した後海水に懸濁させ再び冷蔵庫中で自己消化させると刺胞が遊離して沈降する。懸濁と沈降を繰り返えして純粋に刺胞のみを分離し，ホモジナイザーで磨砕した後遠心分離によつて刺胞内容液と細片とに分ける。刺胞内容物を Swiss mouse の腹腔内に注射すると運動障害，筋弛緩，呼吸低下などが認められる。最後に呼吸不能によつて死に至るが，致死量は 2.0～2.5 mg/Kg で肥満細胞からヒスタミンを遊離させる作用はない。蛙 (***R. pipiens***) での致死量は 16.2 μg で魚に対し有毒，貝の摘出心臓に不可逆的な障害を与える。海産の細菌および酵母に対する作

用は認められない。毒素溶液は 60°C 5 分の加熱および有機溶媒処理によつて失活する。透析は不能でビウレット反応陽性，糖反応陰性で 80% *n*-プロパノールによるペーパークロマトグラフィーを行なうと 9 成分に分かれ，各々は量的にも質的にも異なつたアミノ酸で構成されたペプチドであることがわかつた。（安元　健）

コハク酸脱水素酵素の比色定量法　M. M. NACHLAS, S. I. MARGULIES and A. M. SELIGMAN: *J. Biol. Chem.*, **235** (2), 499—503 (1960).　2-p-iodophenyl-3-p-nitrophenyl-5-phenyltetrazolium chloride (INT) と phenazine methosulfate (PMS) を用いたコハク酸脱水素酵素の比色定量法を案出した。

0.2M コハク酸ソーダ 0.5m*l*, pH 7.7 の 0.1M リン酸塩緩衝液 1.5 m*l*, 0.1% ゼラチン 0.5 m*l*, 0.2% INT 1 m*l* を混じ 37° にする。pH 7.7 の 0.1M リン酸塩緩衝液で希釈した酵素液 0.5 m*l* と 0.8% PMS 0.5 m*l* を加え，37° で 15 分反応させる。0.25M HCl 0.5 m*l* を加えて反応を停止し 540 mμ の吸光度を読む。コハク酸ソーダの代りに 0.1 M フマール酸 0.5 m*l* を加えたものを空試験とする。反応はできるだけ暗所で行なう（直射日光は避ける）。PMS は KEHRMANN-HAVAS の方法 (*Ber.*, **46**, 341 (1913)) で合成する。（永山文男）

2,4-dinitrofluorobenzene によるアミン類の定量と定性　D. T. DUBIN: *J. Biol. Chem.*, **235** (3), 783—786 (1960).　**試薬**:（A）アセトン 50 m*l* に 2,4-dinitrofluorobenzene 0.65 m*l* を溶解する，（B）0.066M ホウ酸ソーダ水溶液，（C）A を B で 10 倍に希釈する，（D）濃塩酸をジオキサンで 100 倍に希釈する。**方法**: 0.01～0.15 μM の遊離第一級または第二級アミンを含む試料溶液（中性）0.05 m*l* を試験管にとり，試薬 C を 0.05 m*l* 加えて 65° に 10～20 分間保つた後試薬 D 1 m*l* を加える。この溶液を Beckman 分光光度計 (1 m*l* キュベット使用) で 370 mμ の吸光度を測定する。

λ_{max} は第一級アミンが 351～358 mμ, 第二級アミンが 373～385 mμ である。また D_{350}/D_{390} の比は第一級アミンが 2.1～2.4, 第二級アミンが 0.55～0.78 である。

ポリアミンも同様に反応する。（永山文男）

家畜飼料の栄養源としての脱脂ヒトデミール　E. LEVIN, N. T. RAND, J. D. MOSSER, D. S. VARNER and V. K. COLLINS: *Poultry Sci.*, **39**, 646—654 (1960).　種牡蠣を食害するヒトデ (*Asterias* sp.) の利用について検討した。すなわち脱脂ヒトデミール (I)（水分 4%, 灰分 47%（このうち 95～97% は $CaCO_3$ である），蛋白 (N × 6.25) 30%, 脂肪 0.3%, 炭水化物 19%）を調製し，初生雛 (New Hampshire × Columbian) を使つて栄養試験を行ない，次のことを明らかにした。(1) I をパンクレアチンで消化し濃縮したもの，および希塩酸で洗つて調製した蛋白濃縮物を使つて実験を行なつたところヒトデの蛋白は良質の魚粉 (II) と同様高品質の蛋白で生物価が高いことがわかつた。(2) I と II とを種々の割合で混ぜたものを使つて試験したところ，20～30% の I を II に混ぜて使用した場合，各々単独で用いた場合よりも栄養価が高かつた。(3) 同じ蛋白量で比較すると I の未知成長因子は II のそれと同程度の効力をもつていることがわかつた。以上のことから I は家畜の飼料としての蛋白，カルシウム，未知成長因子源として II と栄養的にも，経済的にも競うことができると結論した。（金光庸俊）

嫌気性芽胞形成菌芽胞の耐熱性と diqicolinic acid　A. F. BYRNE, T. H. BURTON and B. B. KOCH: *J. Bact.*, **80** (1), 139—140 (1960).　Dyridine 2,6-dicarboxylic acid である dipicolinic acid は，細菌芽胞細胞中にあつて，その母細胞には存在せず，特異的な作用をもつていることが知られている。例えば，*B. cereus* を phenilalanine の存在下で培養してえた芽胞は，dipicolinic acid の含量が少なく，耐熱性が低くなるといわれている。しかし，他のアミノ酸では，このような低下はみられない。また，嫌気性芽胞形成細菌 *Cl. roceum* の場合では，やはり，phenylalanine は dipicolinic acid の含量に影響を与えない。だが，L-alanine では著しい低下をきたす。こうして，dipicolinic acid 含量の異なる芽胞を集め，その耐熱性を測定すると，*Cl. roceum* においては，むしろ，diyicolinic acid 含量の少ないものが耐熱性が大であつた。このことは，*B. cereus* と *Cl. roseum* では，phenylalauine あるいは L-aldnine の存在下における dipicolinic acid の形成機構がちがうものと推定される。少なくとも，*Cl. roseum* の芽胞の場合は，dipicolinic acid とその耐熱性には，*B. cereus* でみられたような関係はない。（内山　均）

冷蔵魚の鮮度判定と貯蔵期間の決定　L. FARBER and P. LERNE: *Food Technol.*, **15** (4), 191—196 (1961).　一般に魚の鮮度判定法とし用いられている方法では，現在魚が新鮮であるか否かについてはある程度知ることができるが，その後その魚の初期腐敗に至るまでの貯蔵日数までも知ることはできない。魚を 42°F (5.6°C) に冷蔵し，毎日その一部をとり出して，88°F (31°C) に 0, 3, 4, 5 時間ずつ保つた後，VRS, TMA-N, 全菌数及び色素生産性菌を測定した。すると一般に冷蔵日数に関係なくこれらの測定値から鮮度良好と判定されていた魚が，88°F に 5 時間放置した後の測定値にはそれまでの貯蔵日数によつて明らかな差異が認められた。即ち魚を 88°F に 5 時間放置してから測定した上記の測定値が真の鮮度を表わす。この方法では sole, rockfish, shrimp 等については VRS, TMA-N, 全菌数，色素生産性菌のいずれもよく，その鮮度を表わしたが，salmon, tuna のように比較的脂肪含有量

の多い魚では脂肪の変腐が関与して複雑となり，VRS と色素生産性菌とが比較的よく鮮度を表わした。（小泉千秋）

Cellulose イオン交換による peptide の分離 S. YANARI, M. VOLINI and M.A. MITZ: *Biochim. Biophys. Acta*, **45**, 595—597 (1960). cellulose 陰イオン交換体粉末のカラムによる peptide の分離法を検討したが，従来のイオン交換樹脂法等にくらべ非常に簡便で，また分離能もすぐれている。即ち少量の水に溶解した peptide をこのカラムにのせ，蒸溜水で展開すると通常のアミノ酸は保持されずに peptide の先にあらわれ，次に結合力の弱い peptide が溶出する。さらに 1 気圧で CO_2 を飽和させた水を流すと強く結合している peptide も溶出してくる。しかし二塩基性アミノ酸や，それを含む peptide は非常につよく保持され，L-glutamyl-L-phenylalanine は CO_2 溶液で溶出されない一例である。diethylaminoethyl (DEAE) cellulose を用い，D-leucyl-L-tyrosine とその立体異性体である L-leucyl-L-tyrosine を分離し，また glycine, diglycine および triglycine 相互の分離も行うことができた。この DEAE cellulose カラムで早く溶出してしまうものには 4 級アミン型の cellulose が適し，また溶出しないものには p-aminobenzyl cellulose が適当である。（岡市友利）

エビ池の害魚抑制を目的としたサポニンの使用 Yun-An Tang: *Progressive Fish-Culturist*, **23** (1), 43—45 (1961). えびの養殖において肉食魚による食害および草食魚との餌の競合は大きな障害である。これらの害魚とえびの間にはサポニンに対する抵抗性に大きな差異があることを確め，害魚駆除の可能性を検討した。茶 (*Camellia sinensis*) の種子の搾粕より得た粗サポニン水溶液では肉食魚のカライワシ (*Elops saurus*) および草食魚のテラピア (*Tilapia mossambica*) の幼魚の 24 時間 100% 致死濃度はそれぞれ 1.0, 1.5 p.p.m. であるのに対し，えび類の *Cardina denticulata* 及び *Penaeus carinadus* (体長 25—50 mm) ではそれぞれ 50, 75 p.p.m. であり魚類より約 50 倍の高い値を示す。次に表面積 0.25 ヘクタール，水深 60 cm のコンクリート池三つの各々に約 5000 尾のえび類 (*P. penicillatus*, *P. bubulus*, *P. semisulcatus*, *C. denticulata*) と 100 尾のカライワシ及び 50 尾のボラ (*Mugil cephalus*) を入れ，各池のサポニン濃度をそれぞれ 2.5, 5.0, 10.0 p.p.m. にすると全ての魚は 24 時間内に死ぬがエビ類には異常は認められなかつた。粗サポニンの代りに茶の実の搾粕をサポニン量が上記の値になるように加えても全く同様の結果が得られる。更に養殖池の水路にサポニン濃度が 5 p.p.m. になるように茶の実搾粕を加えると 12 時間後には多くの種類の魚が死ぬが，水路に棲息しているエビ類および水中に吊した金網籠中のえび類には影響は認められなかつた。（安元　健）

鶏肉中に含まれる蛋白分解酵素 S. BANDACK-YURI and D. ROSE: *Food Technol.*, **15** (4), 186—188 (1961). 鶏肉の 2% KCl 抽出液の超遠心分離によつて得た上澄液から SNOKE and NEURATH の方法によつて蛋白分解能を有する二つの沈澱物を得た。これらはエタノール (19%, pH 5.8, 8 °C) で沈澱する区分と，これに更にアルカリを加えて pH を 7.5 に調整した時に沈澱する区分とである。この二つの区分を "Selectacl" cellulose のカラムクロマトグラフィーで精製し詳細に検討した。クロマトグラフィーで分離した酵素液は pH 4 (2% hemoglobin に対して) と pH 7 (2% acid casein に対して) で最大の蛋白分解力を示した。このカラムから得た各溶出液の 276 mμ における吸光度と蛋白分解能力とを考え合せれば，鶏肉の抽出液には少なくとも二つ以上の蛋白分解酵素が含まれ，その一つは pH 4 で，他の一つは pH 7 で最大の酵素活性を有することがわかつた。しかし，いずれの酵素の蛋白分解力も鶏肉の熟成中において肉を柔かくするほど強いものでなく，この意味では余り重要な酵素ではないように思われる。（小泉千秋）

タラ幼魚筋肉中の酸可溶性核酸系物質について N.R. JONES and J. MURRAY: *Biochem. J.*, **77**, 567—575 (1960). タラ幼魚を，激しく運動させ疲労させた後に殺したグループと，イカを餌にして，数週間飼育し栄養状態よく，充分に休息させた後に殺したグループとにわけた。それぞれのグループから，肉を取り，冷い 0.6 N $HClO_4$ で抽出し，沪液を pH 6.5 に調製してイオン交換法によつて，核酸系物質の分析を行つた。その結果，休息筋と疲労筋のいちじるしい相違は，疲労筋では ATP が減少し，IMP が増加することである。すなわち，休息筋では ATP が 5.34 μmole/g, IMP が 1.26 μmole/g であつたものが，疲労筋では ATP 0.26 μmole/g, IMP 5.86 μmole/g, となつた。また，休息筋では GTP が 0.0025 μmole/g, UTP が 0.0036 μmole/g 存在したが，疲労筋では，これらが全くみられなかつた。IDP および ITP は休息筋，疲労筋とも，全くみとめられなかつたが，これは，高等脊椎動物とは，核酸系物質の代謝が相違しているのかもしれないことを示している。

（鈴木たね子）

雑　　録

○ 日本水産学会中部支部例会

日　時　昭和 36 年 7 月 1 日（土）

場　所　於　真珠会館　伊勢市岩淵町

アコヤガイの成長について I 成長形質 2 ……………………………安達　六郎（三重県大水）
アコヤガイの炉過水量の日週性について……………………………宮内　徹夫（和 具 水 校）
真珠品質を規定する属性要素とその管理克服の方向について………………丹下　　孚（真　珠　研）
真珠の光沢および表面構造について……………………………………和田　浩爾（真　珠　研）
挿核手術後の生理状態と真珠袋上皮組織および沈着物との関係について……植本　東彦（真　珠　研）
定置網の増設が後面定置網におよぼす影響……………………………野沢　　靖（三重県大水）
伊勢湾における特異海況とカタクチイワシ漁況について…………………坂口　　操（三重伊勢水試）
脊椎骨数から見た伊勢湾におけるカタクチイワシ群の考察…………………赤嶺　安彦（三重伊勢水試）
イカリムシ防除に伴なう池中変化の二・三実例…………………鈴木喜三郎・赤嶺安彦（三重伊勢水試）
三重県下における養鰻池の塩分と池水管理…………鈴木喜三郎・赤嶺安彦・沢田俊彦（三重伊勢水試）
志摩南岸におけるワカメとヒロメの分布について……………………喜田和四郎（三重県大水）
流水藻とブリの稚魚について　第一報……………………………………藤井　一朗（三 重 水 試）
カツオおよびビンチョウマグロの魚群の大きさについて………………岡本　久生（三 重 水 試）
漁場による真珠の巻きの差について………………………………………木村　三郎（三 重 水 試）
海苔の野外人工採苗における発芽の密度分布について……荒井幸二郎（愛知尾張水試）・倉掛武雄（愛知水試）

新 着 外 国 文 献 案 内 (1961.6.1～30)

PERIODICALS

Anales del Instituto de Biologia. Univ. Mexico. Tomo XXXII No. 1-2. 1960

Annales. Sciences Zoologiques. Musee Royal de l'Afrique Centrale. Tervueren. Belgique. No. 93. 1961.

Archives Neerlandaises de Zoologie. Tome XIV. Livraison 1. 2. 1961.

Arkiv för Zoologi. Andra Serien. Upsala. Band 13. Häfte 2-3. 1961.

Commercial Fisheries Review. Vol. 23. No. 4. 1961.

Fisheries Tribune. Keelung. No. 1. 1961.

Il Giornale della Pesca. Anno XI. No. 6. 1961.

List of Accessions to the Library. Science Museum Library. Nos. 1575 1576 1577 1578. (1961).

Sarsia. Universitetet i Eergen. (formerly under the title of "Publications from the Eiological station. Espegrend"). No. 1. 2. 1961.

Tidskrift for Hermetikindustri. Aargang 47. Nr. 4. 1961.

Translation Series. Fisheries Research Eoard of Canada. Second Supplement to list of articles in the Translation Series No. 248-340. 1961.

Tulane Studies in Zoology. New Orleans. Vol. 8. No. 4. 1961.

Вопросы Ихтиологии. Том 1. Выпуск 1 (18). 1961.

Известия Академии Наук СССР. серия Биологичесая. No. 2. 1961.

Журнал Общеи Биологии. Том XXII. No. 2. 1961.

REPRINTS

BRATTSTRÖM, H. (1959) Pogonophora in the Hardangerfjord, Western Norway. Nature. Vol. 183. p. 1458.

ROSKAM, R. TH. (1960) Die Haltbarmachung von Garnelen. Arch Fischereiwiss. Band XI. Heft 2. Seiten 81-216.
VAN THIEL, P.H., KUIPERS, F. C. and ROSKAM, R. TH. (1960) A nematode parasitic to herring, causing acute abdominal syndromes in man. Trop. geogr. Med. Vol. 2. pp. 97-113.

正　誤　表

27 巻 6 号 p. 620（雑録）に掲載の関東支部例会研究発表題目の中，1，2，6 は取消しで 3，4，5，7 だけが行なわれましたので訂正致します。

誤	正
p. 371	571
372	572
391	591
392	592

昭和三十六年七月二十日　印　刷
昭和三十六年七月二十五日　発　行

第二十七巻　第七号

本号定価 170 円（送料別）

編集兼発行者　大　島　泰　雄
東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内

発　行　所　日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目　東京水産大学内
振　替　口　座　東　京　59529番
電　話 (451) 2200番

印刷者　笠　井　康　頼

印刷所　株式会社　国際文献印刷社

発売所　株式会社　国際文献印刷社
東京都新宿区山吹町184
電話 (341) 7446・9635